

---

# ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

---

## Nouvelle Contribution à l'étude de *Trypanosoma congolense* Broden

PAR A. LAVERAN

---

En 1908, j'ai publié dans ces *Annales*, un travail sur *Trypanosoma congolense* (1); depuis lors, j'ai continué l'étude de ce trypanosome et je suis en mesure de compléter, sur bon nombre de points, les renseignements contenus dans mon premier travail. Je reviendrai le moins possible sur les faits précédemment exposés.

Je rappelle que l'infection produite par *Tr. congolense* a été observée d'abord dans l'Etat indépendant du Congo, chez différents animaux domestiques (ânes, moutons, bovidés, dromadaires), par A. Broden, Rodhain, Dutton, Todd et Kinghorn et Meuleman, et ensuite, au Congo français, par G. Martin, Lebœuf et Roubaud. D'après ces derniers observateurs, *Tr. congolense* est le trypanosome qui cause le plus grand nombre d'infections parmi les animaux domestiques, dans les régions du Bas et du Moyen Congo (2).

E. Montgomery et A. Kinghorn ont observé des infections par *Tr. congolense* chez des bovidés, dans le nord-est de la Rhodesia (3).

Dans d'autres régions de l'Afrique on a signalé l'existence, chez des animaux domestiques, de petits trypanosomes, évidemment très voisins de *Tr. congolense*, mais dont l'identification à

(1) A. LAVERAN, *Annales de l'Institut Pasteur*, novembre 1908.

(2) G. MARTIN, LEBŒUF et ROUBAUD, La maladie du sommeil au Congo français, Paris, 1909, p. 680.

(3) E. MONTGOMERY et A. KINGHORN, *Annals of trop. med. a. parasitol.*, 20 octobre 1909, t. III, p. 349.

cette espèce n'a pas pu encore être faite de façon certaine (1).

I. MORPHOLOGIE DE *Tr. congolense*. CULTURE. — J'ai peu de chose à ajouter à la description que j'ai donnée de *Tr. congolense*.

Höhnel dit avoir vu, dans les préparations colorées du sang d'un rat infecté par *Tr. congolense*, au 20<sup>e</sup> jour de l'infection, des hématies qui contenaient des trypanosomes; les parasites étaient inclus en entier ou partiellement dans les hématies. Dans une préparation fraîche du sang du rat, le même auteur aurait vu une fois un trypanosome qui avait réussi à pénétrer dans une hématie; le parasite imprimait des mouvements de repliement à la périphérie de l'hématie (2).

Les figures données par Höhnel à l'appui de son opinion, ne me paraissent nullement probantes, il peut très bien se faire qu'il s'agisse simplement de trypanosomes accolés à des hématies. Pour ce qui concerne l'observation faite *une fois* à l'état frais, en admettant que l'interprétation soit exacte, elle ne prouve pas que, *dans les conditions normales*, les trypanosomes pénètrent dans les hématies. Pour ma part, j'ai essayé souvent de contrôler les observations de Höhnel en examinant du sang frais ou du sang desséché et coloré, et je n'ai jamais observé la pénétration des *Tr. congolense* dans les hématies.

J'ai fait avec M. le Dr A. Pettit, plusieurs tentatives pour obtenir des cultures de *Tr. congolense* sur milieu de Novy; ces tentatives ont toujours échoué.

II. ACTION PATHOGÈNE DE *Tr. congolense* CHEZ DIFFÉRENTS MAMMIFÈRES. — Je compléterai les renseignements que j'ai donnés précédemment au sujet de l'action pathogène de *Tr. congolense* sur la souris, le cobaye et le chien, et je résumerai des observations nouvelles faites sur le lapin et sur le chat (3).

A. *Souris*. — Ainsi que je l'ai fait remarquer déjà, la durée de l'infection chez les souris est très irrégulière. Pour 40 souris blanches, la durée moyenne a été de 105 jours; mais, à côté de maxima de 277, 299, 306 et 331 jours, il y a des minima de 18 et 20 jours, sans qu'on puisse s'expliquer pourquoi des inoculations

(1) Voyez notamment : D. BRUCE, A.-E. HAMERTON et H.-R. BATEMAN, A Trypanosome from Zanzibar, *Proceed. of the R. Soc.*, 1909, B. t. LXXXI, et THEILER, Sur un nouveau trypanosome de l'Afrique du Sud, *Soc. de pathologie exotique*, 21 juil. 1909.

(2) F. HOHNEL, *Über Trypanosoma congolense*, *Arch. f. Schiffs u. Tropen Hyg.*, 1908, Beiheft, 3.

(3) A. LAVERAN, *Soc. de pathologie exotique*, 10 novembre 1909.



faites dans les mêmes conditions, chez des animaux semblables et avec le même virus, inoculé de la même manière et aux mêmes doses, donnent lieu, tantôt à des infections à marche aiguë, tantôt à des infections à marche lente. Nous verrons qu'au contraire, chez le cobaye, la durée de la maladie ne varie que dans d'étroites limites.

Sauf dans les cas à marche très aiguë, la trypanosomiase des souris évolue par poussées successives, séparées par des crises trypanolytiques. La notation de l'examen du sang est souvent la suivante, à partir du moment où les trypanosomes apparaissent dans le sang : trypanosomes très rares, — rares, — non rares, — nombreux, — rares, — très rares, — examen négatif, — très rares, — rares, — non rares, etc... Les trypanosomes ne sont pas toujours nombreux dans le sang au moment de la mort, surtout dans les infections à marche lente.

La maladie se termine presque toujours par la mort; sur 40 souris, une seule a résisté à une première infection, sans acquérir l'immunité; réinoculée avec *Tr. congolense*, elle a succombé rapidement.

L'hypersplénie est constante et elle atteint souvent des proportions énormes. La rate, facile à palper, se développe transversalement par rapport à l'axe longitudinal du corps, et il n'est pas rare qu'elle occupe toute la largeur de la moitié supérieure de l'abdomen, la peau de la paroi abdominale est distendue et le poil tombe. L'hypersplénie, après avoir été très forte au cours de la maladie, peut diminuer à la dernière période.

Pour 37 souris, d'un poids moyen de 21 gr. 90, le poids moyen de la rate a été de 1 gr. 43. Il n'est pas rare de trouver des rates pesant de 1 gr. 50 à 2 grammes. Chez une souris de 25 grammes, la rate pesait 3 gr. 70; chez une autre de même poids : 5 grammes, soit le cinquième du poids total !

L'hypersplénie s'explique par l'hyperplasie des éléments propres de la rate et par la congestion très forte dont ce viscère est le siège.

Dans les formes à marche lente, le foie présente aussi des altérations; il est augmenté de volume, la surface est granuleuse, comme celle d'un foie cirrhotique, sans que la consistance augmente; enfin on distingue, à la surface et sur les coupes, de petits îlots blanchâtres, mal limités, en plus ou moins grand nombre.

Sur les coupes histologiques, on note, dans ces cas, une néoformation des cellules du tissu conjonctif, les jeunes éléments sont nombreux, surtout autour des vaisseaux, ils pénètrent çà et là dans la partie périphérique des lobules et altèrent plus ou moins les cellules hépatiques. Les capillaires sanguins sont distendus par le sang.

Chez deux souris, l'autopsie a révélé des hémorragies intrapéritonéales abondantes. Dans un des cas, la rate qui pesait 1 gr. 50, présentait une petite déchirure de 5 à 6 mm. de long à son bord antérieur; nous verrons plus loin que ces déchirures de la rate sont communes chez les cobayes infectés avec *Tr. congolense*. Dans l'autre cas, le sang épanché dans le péritoine, semblait provenir d'une hémorragie périrénale; la capsule de la rate ne présentait aucune déchirure (Observation 3).

Chez les souris qui meurent de la forme lente de la trypanosomiase, l'anémie est extrêmement marquée à la période terminale de la maladie.

1<sup>o</sup> Une souris est inoculée avec *Tr. congolense* le 19 juillet 1908. — 28 juillet, trypan. non rares. — 4 sept., assez nombreux. — 11, examen du sang négatif. — 18, trypan. rares. — 25, examen négatif. — 2 octobre, trypan. très rares. — 11, rares. — 19, 28 octobre et 4 novembre, examens négatifs. — 11 novembre, rares. — 19, très rares. — 26, rares. — 3 décembre, examen négatif. — 10, rares. — 18, très rares. — 26, non rares. — 2, 11 et 21 janvier 1909, trypanosomes très rares. — 31, rares. — 11 février, examen négatif. — 21 et 28, rares. — 7 et 14 mars, non rares. — 21, rares. — 28, examen négatif. — 4 et 11 avril, très rares. — 18, nombreux.

La souris meurt le 22 avril 1909; elle pèse 28 grammes. La rate, très volumineuse, pèse 1 gr. 70. Le foie est augmenté de volume; il pèse 3 gr. 40 et présente des altérations évidentes même à l'examen macroscopique: la surface est inégale, granuleuse; à la surface et sur les coupes, on distingue de petits îlots blanchâtres.

2<sup>o</sup> Une souris est inoculée avec *Tr. congolense* le 31 décembre 1908. — 5 et 8 janvier 1909, trypan. non rares. — 11, rares. — 15 et 20, non rares. — 25, nombreux. — 30, rares. — 4 et 11 février, examens négatifs. — 18, non rares. — 25, nombreux. — 2 mars, rares. — 9, non rares. — 14, 21, 28, 29, nombreux. — 4 avril, non rares. — 11, 18, 25, assez nombreux. — 2, 9 et 16 mai, non rares; la rate est très grosse, elle occupe toute la largeur de l'abdomen. — 23 mai, trypan. rares. — 30 mai, 6, 13 et 20 juin, non rares. — 27, examen négatif. — 4 juillet, trypan. très rares.

La souris meurt le 8 juillet 1909; elle pèse 24 grammes; la rate pèse 1 gr. 50. Le foie est volumineux, la surface est inégale; on distingue à la surface et sur les coupes, de petits îlots blanchâtres.

3<sup>o</sup> Une souris inoculée avec *Tr. congolense* le 14 mars 1909 a, le 3 avril,



des trypanosomes assez nombreux. — 6, 10, 15, 20 avril, trypan. non rares. — 25, très rares. — 30, nombreux. — 5 mai, rares. — 10, non rares. — 17, nombreux. — 24, examen négatif. — 30 mai et 6 juin, non rares. — 13, rares. — 20, nombreux; rate très grosse. — 27, examen négatif. — 4 juillet, trypan. non rares. — 11, assez nombreux.

La souris meurt le 15 juillet; elle pèse 27 grammes. La rate, volumineuse, pèse 1 gr. 30. Epanchement sanguin intrapéritonéal assez abondant. Le tissu conjonctif qui entoure le rein gauche est infiltré de sang. Il n'y a pas de déchirure de la rate. Le foie est augmenté de volume; la surface est granuleuse; on distingue à la surface et sur la coupe, des îlots blanchâtres.

4° Une souris inoculée le 31 mars 1909 avec *Tr. congolense* a, le 11 avril, des trypanosomes non rares. — 15, trypan. rares. — 20, non rares. — 26, très nombreux. — 1<sup>er</sup> et 7 mai, non rares. — 13, nombreux; hypersplénie très marquée. — 20, très nombreux. — 27, non rares. — 3 juin, examen du sang négatif. — 10, trypan. rares. — 17, très rares. — 24, non rares. — 1<sup>er</sup> juillet, assez nombreux. — 8, la rate qui est très grosse distend la peau de l'abdomen, elle forme une tumeur qui occupe toute la largeur de l'abdomen dans sa moitié supérieure. Trypan. nombreux. — 15 juillet, rares. — 22, 29 juillet, 5 et 12 août, non rares. — 15 août, très rares.

La souris meurt le 11 septembre, elle pèse 27 grammes; la rate pèse 2 grammes. Le foie volumineux présente, comme chez les souris 1, 2 et 3, les signes caractéristiques de l'hépatite interstitielle.

*B. Cobayes.* — C'est au moyen de passages par cobayes que je garde le *Tr. congolense* depuis 1906, j'ai dû, par conséquent, inoculer un grand nombre de ces animaux. L'inoculation de cobaye à cobaye, dans le tissu conjonctif sous-cutané réussit toujours. Il n'en est pas de même quand les cobayes sont inoculés avec le virus provenant de passages par souris; dans ces conditions, les insuccès ne sont pas rares.

L'incubation est de 7 à 8 jours.

Contrairement à ce qui arrive pour les souris, la durée de l'infection varie très peu chez les cobayes; ainsi que je l'ai fait remarquer déjà, les passages multipliés par cobayes n'ont pas modifié sensiblement la virulence de *Tr. congolense* (1).

Du 1<sup>er</sup> au 5<sup>e</sup> passage, la durée de la maladie a été de 15 jours; du 36<sup>e</sup> au 40<sup>e</sup>, elle a été de 14 jours.

Chez les 25 premiers cobayes, inoculés par moi en 1906, la durée moyenne de la maladie a été de 15 jours; chez les 25 derniers, inoculés en 1909, cette durée a été de 14 jours, 7.

L'infection du cobaye se termine toujours par la mort.

L'hypersplénie est constante; pour des cobayes de

(1) A. LAVERAN, *Soc. de pathologie exotique*, 8 avril 1908.

500 grammes, infectés avec *Tr. congolense*, le poids moyen de la rate est de 4 gr. 50; dans certains cas, le poids de la rate atteint 6, 8, 10, 12 grammes; dans un cas dont j'ai donné précédemment l'observation, la rate d'un cobaye de 480 grammes pesait 19 grammes!

J'ai signalé, en 1908, la fréquence des épanchements sanguins intrapéritonéaux et des déchirures de la rate chez les cobayes infectés par *Tr. congolense* (1). Depuis lors, j'ai recueilli bon nombre de faits qui confirment la fréquence de ces accidents.

Sur 121 cobayes qui ne figurent pas dans ma première statistique, j'ai noté :

Hémorragie intrapéritonéale produite par une déchirure de la rate, 20 fois.

Hémorragie intrapéritonéale produite par une déchirure du foie, 2 fois.

Hémorragie intrapéritonéale dont l'origine n'a pas pu être constatée, 1 fois.

Foyer hémorragique sous-capsulaire de la rate, 1 fois.

Ainsi que je l'ai signalé déjà, les déchirures de la rate sont la cause ordinaire des hémorragies intrapéritonéales; il s'agit tantôt de déchirures proprement dites, plus ou moins étendues en largeur et en profondeur (Observations 2 et 6), tantôt d'hémorragies qui décollent et déchirent la capsule de la rate. (Observations 3, 4, et 5). L'observation 1 est intéressante au point de vue de l'étude de ce dernier mode de déchirure de la rate. Le foyer hémorragique sous-capsulaire ne s'était pas rompu dans le péritoine du cobaye qui fait l'objet de cette observation, mais la rupture était imminente.

Les déchirures du foie sont beaucoup plus rares que celles de la rate, je n'en ai recueilli que deux cas (Observations 7 et 8).

Le foie est souvent altéré chez les cobayes, comme chez les souris, mais à un moindre degré, probablement en raison de la marche plus rapide de la maladie. D'après les observations faites par M. le Dr PETTIT, on voit, au voisinage des vaisseaux, des amas de cellules de nouvelle formation et les cellules hépatiques sont en dégénérescence granuleuse ou grasseuse, ce qui permet de comprendre que le parenchyme hépatique, devenu plus friable qu'à l'état normal, puisse être le siège de déchirures.

(1) A. LAVERAN, *Soc. de pathologie exotique*, 1908, *Bulletin*, t. I, p. 394.



Il est fréquent d'observer, chez les cobayes infectés avec *Tr. congolense*, des œdèmes et des hémorragies dans le tissu conjonctif des parois abdominale et thoracique.

1° Un cobaye, inoculé avec *Tr. congolense* le 13 mai 1908, s'infecte et meurt le 10 juin. Le cobaye pèse 300 grammes, sa rate pèse 5 grammes.

A la partie inférieure de la rate, on constate l'existence d'une poche sanguine superficielle, du volume d'une noix. Le sang liquide contenu dans cette poche n'est retenu que par la capsule de la rate qui est distendue et amincie. La rupture de la capsule aurait entraîné la formation d'un épanchement sanguin intrapéritonéal. Le parenchyme splénique est ramolli.

2° Un cobaye, inoculé avec *Tr. congolense* le 23 mai 1908, a le 12 juin des trypanosomes assez nombreux, il meurt le 16 juin.

Le cobaye pèse 500 grammes. Il existe un épanchement sanguin intrapéritonéal abondant. La rate, très volumineuse, présente à la partie moyenne de sa face externe une déchirure transversale qui mesure 1 c. 1/2 de long. Le parenchyme splénique est ramolli, il n'y a pas d'hémorragie intrasplénique, pas de décollement de la capsule. La rate pèse 10 grammes.

3° Un cobaye, inoculé avec *Tr. congolense* le 8 mai 1909, a le 21 mai des trypanosomes non rares, et meurt le 25 mai.

Le cobaye pèse 540 grammes. Épanchement sanguin intrapéritonéal abondant. Rate volumineuse. La capsule de la rate est décollée dans toute la moitié inférieure de la face externe et présente une large déchirure. Le parenchyme splénique est ramolli. La rate pèse 5 grammes.

4° Un cobaye, inoculé le 12 juin 1909 avec *Tr. congolense*, a le 22 juillet des trypanosomes nombreux, il meurt ce même jour.

Le cobaye pèse 490 grammes. Hémorragie intrapéritonéale abondante. La rate volumineuse est dépouillée de sa capsule dans toute l'étendue de sa surface interne, des lambeaux du parenchyme splénique sont restés adhérents à la capsule qui présente une large déchirure. La rate pèse 5 grammes. Il paraît évident qu'une hémorragie sous-capsulaire a décollé la capsule de la rate dans une grande étendue et que la poche s'est ensuite rompue dans le péritoine.

5° Un cobaye, inoculé le 29 juin 1909 avec *Tr. congolense*, a le 7 juillet des trypanosomes non rares et meurt le 13 juillet.

Le cobaye pèse 500 grammes. Épanchement sanguin intrapéritonéal abondant. La rate est volumineuse, elle pèse 6 grammes. La capsule de la rate est détachée dans toute la moitié supérieure de la face externe et il existe une déchirure au bord interne.

6° Un cobaye inoculé avec *Tr. congolense* le 28 juillet 1909, s'infecte et meurt le 9 août. Le cobaye pèse 500 grammes. Épanchement sanguin intrapéritonéal abondant. La rate est volumineuse, elle pèse 6 grammes. Large déchirure qui occupe presque toute la longueur de la face externe de la rate; les bords de la déchirure sont décollés; le parenchyme splénique est ramolli.

7° Un cobaye, inoculé le 22 juin 1909 avec *Tr. congolense*, a le 29 juin des trypanosomes assez nombreux, et meurt le 5 juillet.

Le cobaye pèse 470 grammes. Epanchement sanguin intrapéritonéal abondant. La rate est volumineuse; elle pèse 5 gr. 50; examinée avec le plus grand soin, elle ne présente aucune déchirure. A la face supérieure du foie, dans la région externe, on constate une petite déchirure linéaire qui mesure 1 c. 1/2 de long. Aucun traumatisme n'explique cette déchirure.

8° Un cobaye, inoculé le 20 juillet 1909 avec *Tr. congolense*, s'infecte et meurt le 8 août. Le cobaye pèse 460 grammes. Epanchement sanguin intrapéritonéal abondant. La rate est volumineuse, elle pèse 6 grammes; examinée avec le plus grand soin, elle ne présente aucune déchirure. Deux petites érosions de la face supérieure du foie, paraissent avoir été le point de départ de l'hémorragie.

C. *Lapins*. — Deux lapins inoculés le 18 mars 1909 sur un cobaye se sont infectés. L'un d'eux a succombé 33 jours après l'inoculation à une péritonite se rattachant probablement à une orchite; les trypanosomes ont toujours été rares ou très rares dans le sang. Le poids du corps était de 2250 grammes, le poids de la rate de 8 gr. 50.

L'autre lapin, dont on trouvera l'observation ci-dessous, a présenté une infection assez sévère, d'une durée de deux mois environ, qui s'est terminée par guérison. Le lapin réinoculé à deux reprises avec *Tr. congolense* ne s'est pas infecté, il avait donc acquis l'immunité pour ce virus.

Il sera intéressant de rechercher si cette terminaison par guérison est commune chez les lapins inoculés avec *Tr. congolense*.

Un lapin du poids de 2330 grammes est inoculé le 18 mars 1909 avec *Tr. congolense* sur un cobaye. — 25 mars, trypan. rares. — 29, examen du sang négatif au point de vue de l'existence des trypanosomes; leucocytose marquée. — 1<sup>er</sup> avril, trypan. très rares. — 4, examen négatif. — 8, 13, et 17, trypan. très rares. Anémie très marquée. Poids: 2490 grammes. — 20 et 24 avril, examens négatifs. — 28, trypan. très rares. — 2 et 8 mai, examens négatifs. Poids: 2570 grammes. — 14 mai, trypan. rares. Le lapin ne présente aucun signe d'infection, il augmente de poids; il pèse le 14 mai: 2870 grammes. Du 19 mai au 15 septembre, tous les examens du sang sont négatifs. Les hématies qui s'agglutinaient au cours de l'infection, ne s'agglutinent plus. Le lapin va très bien, il pèse le 24 mai, 2980 grammes; le 28 juin, 3500 grammes; le 26 juillet, 3685 grammes; le 15 septembre 4330 grammes.

Le 15 septembre, le lapin qui paraît guéri est réinoculé avec *Tr. congolense* sur cobaye. — 22, 27 septembre et 1<sup>er</sup> octobre, examens du sang négatifs, les hématies ne s'agglutinent pas. — 3 octobre, le lapin est réinoculé plus largement que la première fois sur un cobaye ayant des trypanosomes nombreux. — 8, 12 et 18 octobre, examens négatifs. — 13 octobre, on inocule deux rats blancs, chacun d'eux reçoit, dans le péritoine, un demi-centimètre cube du sang du lapin.

A la date du 20 novembre, les rats ne se sont pas infectés.



Le 20 novembre, le lapin qui pèse 4450 grammes, est inoculé avec *Tr. dimorphon* sur souris. — 3 décembre. Le lapin a maigri, il ne pèse plus que 4190 grammes. Anémie très marquée; les hématies s'agglomèrent; on trouve dans le sang, des trypanosomes très rares.

De deux lapins inoculés le 25 octobre 1909 avec *Tr. congolense* l'un paraît être en bonne voie de guérison, à la date du 30 janvier 1910, l'autre est mort le 3 janvier 1910 avec des trypanosomes nombreux et une rate volumineuse.

Un lapin inoculé le 19 décembre 1909 est mort le 15 janvier 1910 avec des trypanosomes nombreux et une rate volumineuse comme le précédent.

L'évolution de l'infection produite par *Tr. congolense* est donc très variable chez le lapin.

D. *Chiens*. — Les observations nouvelles que j'ai recueillies sur des chiens confirment la description que j'ai donnée précédemment de l'évolution, chez ces animaux, de l'infection produite par *Tr. congolense*. Cinq chiens inoculés avec le sang de chèvres ou de moutons infectés de *Tr. congolense*, sont morts respectivement en 21, 27, 28, 46 et 52 jours. Aucun de ces animaux n'a présenté de troubles oculaires. Au moment de la mort, les trypanosomes étaient nombreux ou assez nombreux dans le sang.

A l'autopsie, la rate a toujours été trouvée hypertrophiée. Chez un chien du poids de 18 kilogrammes, la rate très ramollie, mamelonnée à la surface, pesait 227 grammes.

L'examen histologique du foie fait dans deux cas par M. le docteur A. Pettit a révélé l'existence d'une hépatite bien caractérisée : congestion vasculaire, amas volumineux de cellules de nouvelle formation au voisinage des vaisseaux, atrophie des cellules hépatiques, léger degré de sclérose.

E. *Chats*. — Six jeunes chats inoculés avec *Tr. congolense* se sont infectés. La période d'incubation a été de 11 à 25 jours; avant l'apparition des trypanosomes, l'agglutination des hématies annonçait que les animaux s'étaient infectés. La durée totale de la maladie, qui s'est toujours terminée par la mort, a été de 78 jours (durée minima, 68 jours; maxima, 85 jours).

Les trypanosomes sont, en général, rares ou très rares dans le sang; chose curieuse, à la dernière période de la maladie, les parasites sont souvent en si petit nombre dans le sang, que l'examen histologique, pratiqué par le procédé ordinaire, ne révèle plus leur présence.

L'infection ne se traduit, et seulement à la dernière période, que par de l'affaiblissement; chez aucun des six chats je n'ai noté de troubles oculaires pouvant se rattacher à la trypanosomiase.

A l'autopsie, la rate est peu hypertrophiée; chez deux des animaux, du poids de 1 kilogramme, la rate pesait 5 grammes; dans les autres cas, elle était notablement plus petite: 3 grammes, 2 grammes, et même une fois, 0 gr. 60. Le foie a été noté souvent comme gros et congestionné.

3 chats, âgés de 6 semaines environ, sont inoculés le 29 mai avec *Tr. congolense* sur cobaye. L'inoculation a lieu dans le tissu conjonctif sous-cutané.

1<sup>er</sup> chat. 5 juin, l'examen du sang est négatif, mais les hématies s'agglutinent. — 8, trypanosomes rares. — 12, examen négatif. — 16, non rares. — 20, très rares. — 25 et 26, non rares. — 1<sup>er</sup> et 6 juillet, assez nombreux. Le chat ne présente aucun symptôme morbide. Pas de troubles oculaires. — 10 juillet, trypan. non rares. — 3 août, rares; anémie, leucocytose marquée; le chat s'affaiblit, ses mouvements sont moins vifs. Pas de troubles oculaires. — 11 août, l'examen du sang est négatif. Le chat va s'affaiblissant, il meurt le 18 août.

Poids du corps : 700 grammes. Poids de la rate : 2 grammes. Le foie est gros, congestionné. Pas d'autres altérations.

2<sup>e</sup> chat. Les examens du sang, faits les 5, 8, et 12 juin sont négatifs, mais les hématies s'agglutinent. — 16 juin, trypan. non rares. — 20, très rares; l'agglutination des hématies est très belle. — 25, trypan. non rares. — 1<sup>er</sup> juillet, très rares. — 6, non rares. — 10, très rares. — 16, 22, 28 juillet, 3 et 11 août, l'examen du sang ne révèle pas l'existence des trypanosomes, mais l'agglutination des hématies est toujours très nette. Le chat va s'affaiblissant, sans autres symptômes; pas de troubles oculaires.

Mort le 13 août. Poids du corps : 1 kilogramme. Poids de la rate : 5 grammes. Foie gros, congestionné. Moelle osseuse rouge, fluide. Pas d'autres altérations.

3<sup>e</sup> chat. 5, 8 et 12 juin, examens du sang négatifs; les hématies s'agglutinent. — 16 juin, trypan. rares. — 20 et 25, très rares. — 1<sup>er</sup> juillet, non rares. — 6, rares. — 10, nombreux; anémie marquée. — 16, trypan. non rares. — 22, très rares. — 28 juillet, 3, 11 et 14 août, examens du sang négatifs au point de vue de la présence des trypanosomes; l'agglutination des hématies a été constatée dans tous les examens. Pas d'autre symptôme que de l'affaiblissement et de la perte d'appétit dans les derniers jours. Pas de troubles oculaires.

Mort le 14 août. Poids du corps : 1070 grammes. Poids de la rate : 5 grammes. Foie gros, congestionné. Pas d'autres altérations.

III. TRAITEMENT DES INFECTIONS PRODUITES PAR *Tr. congolense*. — L'atoxyl et son dérivé acétylé, qui exercent une action si



efficace dans la plupart des trypanosomiasés, sont tout à fait inactifs dans les infections produites par *Tr. congolense*; au contraire, l'émétique de sodium et l'émétique d'aniline font disparaître rapidement les trypanosomes du sang, c'est donc à ces derniers médicaments, à l'exclusion de l'atoxyl et de son dérivé acétylé, qu'il faudrait avoir recours, si l'on se proposait de traiter des animaux domestiques infectés par *Tr. congolense*.

Les observations qui suivent, montrent d'une part, l'inefficacité de l'atoxyl et de son dérivé acétylé (Observations 1, 2, 3), d'autre part, l'efficacité de l'émétique d'aniline et de l'émétique de sodium (Observations 4, 5, 6, 7, 8).

1° Un cobaye du poids de 500 grammes inoculé avec *Tr. congolense* le 7 juillet 1909 a, le 16 juillet, des trypanosomes non rares. Il reçoit 3 centigr. du dérivé acétylé de l'atoxyl, qui ne font pas disparaître les trypanosomes du sang. 4 autres doses du même médicament (3 à 4 centigr.) restent sans effet; il en est de même de 4 doses d'atoxyl, de 1 centigr. 50 à 2 centigr. qui sont données ensuite; le cobaye meurt le 12 août, avec des trypanosomes très nombreux; il ne pèse plus que 300 grammes. La rate est volumineuse, comme chez les cobayes non traités; elle pèse 5 grammes.

2° Un cobaye du poids de 400 grammes, infecté de *Tr. congolense* et traité par le dérivé acétylé de l'atoxyl (2 doses de 3 centigr. à 3 jours d'intervalle) meurt avec des trypanosomes très nombreux. Poids: 345 grammes; poids de la rate: 4 grammes.

3° Un cobaye du poids de 450 grammes, inoculé de *Tr. congolense* et traité par l'atoxyl (3 doses de 1 centigr. 50 à 2 centigrammes), meurt avec des trypanosomes très nombreux. Poids: 450 grammes; poids de la rate: 4 gr. 80.

4° Un cobaye du poids de 560 grammes inoculé avec *Tr. congolense* le 13 septembre 1909 a, le 22 septembre, des trypanosomes non rares; il reçoit 2 centigr. 3 d'émétique d'aniline. Le 23 septembre, les trypanosomes ont entièrement disparu du sang. Le 4 octobre, le cobaye meurt accidentellement; les trypanosomes n'ont pas reparu. Poids: 320 grammes; la rate ne pèse que 0 gr. 50.

5° Un cobaye inoculé avec *Tr. congolense* le 22 septembre 1909 a, le 6 octobre, des trypanosomes très nombreux; il pèse 630 grammes. Le 6 octobre à 2 heures du soir, le cobaye reçoit, en injection hypodermique, 1 centigr. 50 d'émétique de sodium. Le 7 octobre à 9 heures du matin, les trypanosomes ont disparu complètement du sang. Les 10, 14, 18 et 22 octobre on fait de nouvelles injections d'émétique de sodium (1 centigr. 50 à 2 centigrammes), bien que les trypanosomes n'aient pas reparu. Le 22 octobre le cobaye pèse 650 grammes; le 1<sup>er</sup> décembre 710 grammes; le 15 décembre, 730 grammes. Le 1<sup>er</sup> février 1910, les trypanosomes n'ont pas reparu.

6° Un cobaye inoculé avec *Tr. congolense* le 30 octobre 1909 a, le 10 no-

vembre, des trypanosomes non rares, il pèse 390 grammes. Le cobaye reçoit les 10, 14, 18, 22 et 27 novembre, des injections d'émétique d'aniline de 1 centigr. 50 chaque. Les trypanosomes ont disparu du sang 24 heures après la première injection, et n'ont pas reparu à la date du 1<sup>er</sup> février 1910. Le 27 novembre, le cobaye pèse 425 grammes; le 8 décembre, 445 grammes; le 15 décembre, 500 grammes et le 1<sup>er</sup> février 1910, 570 grammes.

7<sup>o</sup> Un cobaye inoculé le 10 novembre 1909 avec *Tr. congolense* a, le 22 novembre, des trypanosomes nombreux, il pèse 520 grammes. Le cobaye reçoit les 22, 26, 30 novembre, 4 et 8 décembre, de l'émétique d'aniline à la dose de 1 centigramme à 1 centigr. 50. Le 1<sup>er</sup> février 1910, les trypanosomes n'ont pas reparu, le cobaye pèse 800 grammes (femelle pleine).

8<sup>o</sup> Un cobaye a, le 22 novembre, des trypanosomes non rares, il pèse 520 grammes. Le cobaye reçoit les 22, 26 et 30 novembre, 4 et 9 décembre, de l'émétique d'aniline à la dose de 1 centigramme à 1 centigr. 50. Le 1<sup>er</sup> février 1910, les trypanosomes n'ont pas reparu, le cobaye pèse 540 grammes.

IV. DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL. — Par ses dimensions, *Tr. congolense* se distingue nettement des trypanosomes du type *Tr. Evansi* (*Tr. Brucei*, *Tr. gambiense*, *Tr. vivax*, *Tr. soudanense*).

*Tr. Cazalboui* présente ce caractère important qu'il n'est inoculable ni au singe, ni au chien, ni au cobaye, ni au rat, ni à la souris.

*Tr. Pecaui*, avec ses deux formes, dont l'une, mesurant 25 à 35  $\mu$  de long, et l'autre courte, mais remarquable par sa largeur, se différencie facilement aussi de *Tr. congolense*.

Le diagnostic différentiel de *Tr. congolense* et de *Tr. dimorphon* présente plus de difficultés, et il n'est pas douteux que ces trypanosomes aient été confondus plus d'une fois.

*Tr. dimorphon* présente, dans les cas typiques, un mélange de petites formes (10 à 15  $\mu$  de long) et de grandes formes (22  $\mu$  de long en moyenne) qui est caractéristique, mais les grandes formes sont parfois très rares et alors la ressemblance morphologique avec *Tr. congolense* devient très grande. Il était donc nécessaire de rechercher s'il n'existait pas entre *Tr. congolense* et *Tr. dimorphon* d'autres caractères différentiels.

L'évolution des infections produites par ces deux trypanosomes présente, au moins chez certaines espèces animales, des différences notables.

Chez la souris, les infections par *Tr. congolense* ont une marche plus lente que celles produites par *Tr. dimorphon*; on a vu plus haut que, pour 40 souris inoculées avec *Tr. congolense*, la durée



moyenne de la maladie avait été de 105 jours; pour 28 souris inoculées avec *Tr. dimorphon*, la durée moyenne de la maladie a été de 12 jours.

Chez le lapin, l'infection par *Tr. congolense* paraît moins grave que celle produite par *Tr. dimorphon*; j'ai cité plus haut l'observation d'un lapin qui a guéri d'une infection par *Tr. congolense*, et qui avait acquis l'immunité pour ce virus; je doute que les infections par *Tr. dimorphon* puissent se terminer ainsi chez le lapin.

Les infections par *Tr. congolense* se terminent plus souvent par guérison, chez la chèvre et chez le mouton, que les infections dues à *Tr. dimorphon*, et les premières confèrent plus sûrement l'immunité (après guérison naturelle) que les secondes.

Il est probable qu'une étude plus approfondie de l'évolution des deux infections chez les animaux, révélera encore d'autres différences.

L'atoxyl et son dérivé acétylé qui sont sans action sur le *Tr. congolense*, agissent, faiblement il est vrai, sur *Tr. dimorphon*. Chez des cobayes infectés de *Tr. dimorphon*, j'ai réussi à faire disparaître passagèrement les trypanosomes du sang, en leur donnant de fortes doses d'atoxyl ou de son dérivé acétylé, résultat que je n'ai jamais obtenu chez les cobayes infectés par *Tr. congolense*.

L'observation suivante montre que, dans l'infection par *Tr. dimorphon*, le dérivé acétylé de l'atoxyl, a une action passagère sur les trypanosomes; l'émétique de sodium et l'émétique d'aniline agissent bien sur *Tr. dimorphon*, comme sur *Tr. congolense*.

Un cobaye inoculé le 8 octobre 1909 avec *Tr. dimorphon* a, le 18 octobre, des trypanosomes nombreux; il pèse 600 grammes. Le cobaye reçoit, le 18 octobre, 3 centigrammes du dérivé acétylé de l'atoxyl. — 19 octobre, trypanosomes non rares, peu mobiles. — 20, trypan. non rares; dérivé acétylé de l'atoxyl, 3 centigrammes. — Les 23, 25 et 28 octobre, l'examen du sang est négatif; le poids est tombé le 23 à 540 grammes. — Les 25 et 28, le cobaye reçoit encore 2 centigrammes du dérivé acétylé. — 31 octobre, trypan. non rares; atoxyl 2 centigrammes. — 1<sup>er</sup> novembre, trypan. rares, peu mobiles. — 2, trypan. rares; atoxyl, 2 centigrammes. — 3, trypan. non rares. — 4, trypan. non rares; émétique sodique 1 centig. 50; le cobaye pèse 530 grammes. — 5, les trypanosomes ont disparu. — Les 7, 10, 15 et 20 novembre, le cobaye prend encore 4 doses d'émétique sodique. — Le 1<sup>er</sup>

décembre, le cobaye pèse 580 grammes. — Les trypanosomes n'ont pas reparu à la date du 1<sup>er</sup> février 1910. Le cobaye pèse 595 grammes.

Trois autres cobayes infectés avec *Tr. dimorphon* et traités d'emblée par l'émétique d'aniline, paraissent être en bonne voie de guérison.

Les faits suivants, que j'ai rapportés dans des travaux antérieurs (1) me paraissent démontrer que *Tr. congolense* et *Tr. dimorphon* appartiennent à deux espèces distinctes.

Une chèvre ayant acquis une immunité solide pour *Tr. congolense*, s'est infectée par *Tr. dimorphon* et a succombé à la maladie produite par ce virus.

Un bouc ayant acquis une immunité solide pour *Tr. congolense*, s'est infecté par *Tr. dimorphon*. Cette infection a été de longue durée; inoculé avec *Tr. dimorphon* le 23 juin 1908, le bouc était encore infecté le 5 avril 1909. A la date du 20 mai 1909, le bouc est guéri.

Un mouton ayant acquis l'immunité pour *Tr. Pecaudi* d'abord et ensuite pour *Tr. dimorphon*, inoculé avec *Tr. congolense*, a présenté une infection bien caractérisée et de longue durée; l'inoculation avec *Tr. congolense* remonte au 16 décembre 1908 et à la date du 14 septembre 1909, le mouton était encore infecté.

On a vu plus haut qu'un lapin, qui était guéri d'une infection par *Tr. congolense*, et qui avait acquis l'immunité pour ce virus s'est infecté par *Tr. dimorphon*.

D. Bruce a fait remarquer que *Tr. dimorphon* se cultivait plus facilement sur milieu de Novy que *Tr. congolense* (2). J'ai vérifié récemment avec M. le docteur Pettit ce caractère différentiel des deux trypanosomes. Avec *Tr. dimorphon* on obtient facilement les premières cultures; dès le 3<sup>e</sup> jour de l'ensemencement, on a parfois de belles formes en rosaces; les repiquages réussissent moins bien; avec *Tr. congolense* les résultats des ensemencements sont négatifs ou bien, on ne trouve que de rares flagellés.

*Trypanosoma nanum* Laveran a, au point de vue morphologique, la plus grande ressemblance avec *Tr. congolense*, mais d'après les recherches d'A. Balfour, il est spécial aux Bovidés; il n'est inoculable ni aux cercopithèques, ni au chien, ni au

(1) A. LAVERAN, *Ann. Inst. Pasteur*, novembre 1908, et *Acad. des Sciences*, 29 mars 1909.

(2) D. BRUCE, A trypanosome of Zanzibar, *Proceed. of the R. Soc.*, 1909.



lapin (1). L'étude de ce trypanosome est d'ailleurs encore incomplète.

Montgomery et Kinghorn, ont observé, chez une vache de la Rhodesia, un trypanosome qui paraît appartenir à une espèce nouvelle à laquelle j'ai proposé de donner le nom de *Tr. Montgomeryi* (2). Les petites formes de ce trypanosome, qui mesurent 10 à 12  $\mu$  de long, sont remarquables par leur largeur qui atteint parfois 4  $\mu$  à 4  $\mu$ , 50 et par ce fait que l'extrémité postérieure est large et arrondie. La membrane ondulante se prolonge jusqu'à l'extrémité du flagelle.

Le parasite est inoculable, non seulement aux bovidés, à la chèvre et au mouton, mais aussi au cobaye et au chien, contrairement à ce qui a lieu pour *Tr. nanum*.

Le trypanosome provenant d'un cheval infecté au Zanzibar, qui a été décrit par D. Bruce en 1908 (3), paraît devoir être identifié à *Tr. dimorphon*; c'est la conviction à laquelle je suis arrivé après avoir étudié une préparation de ce trypanosome que le docteur D. Bruce avait bien voulu m'adresser.

Quant au trypanosome décrit en 1909 par Theiler comme nouveau (4), il y a lieu de faire des réserves. Ce trypanosome a tous les caractères de *Tr. congolense*, à cela près que les cobayes inoculés par Theiler ne se sont pas infectés. Ainsi que je l'ai fait remarquer (5), il arrive que *Tr. congolense* ou *Tr. dimorphon* perdent en partie leur virulence pour le cobaye après avoir séjourné longtemps sur d'autres espèces animales. J'ai eu de la peine, en 1909, à infecter des cobayes avec un *Tr. dimorphon* qui, primitivement, s'était montré très virulent pour les cobayes, mais qui depuis longtemps avait été conservé par passages sur souris. J'ai réussi finalement à rendre à ce trypanosome, sa virulence première pour les cobayes. Le trypanosome décrit comme nouveau par Theiler, doit être identifié probablement, soit à *Tr. congolense*, soit à *Tr. dimorphon*.

(1) A. LAVERAN, *Société de Biologie*, 18 février 1905. — A. BALFOUR, Trypanosomiasis in the anglo-egyptian Soudan, *Edinburgh med. Journal*, septembre 1905. — A. BALFOUR et C.-M. WENYON, *Third Report of the Wellcome research laboratories*, Khartoum, 1908.

(2) R.-E. MONTGOMERY et A. KINGHORN, *Annals of trop. med. a. parasitology*, 20 octobre 1909, t. III, p. 354.

(3) D. BRUCE, *Proceed. of the R. Soc.*, 26 novembre 1908.

(4) THEILER, *Soc. de pathologie exotique*, 21 juillet 1909.

(5) A. LAVERAN, *Soc. de pathologie exotique*, 13 octobre 1909, t. II, p. 456.

# La Sérothérapie Antiméningococcique

---

PAR M. CH. DOPTER

*Médecin-Major de 2<sup>e</sup> classe, Professeur agrégé libre du Val-de-Grâce.*

---

Dès le jour où il fut établi que la méningite cérébro-spinale, dite épidémique, était une affection spécifique, déterminée exclusivement par le méningocoque de Weichselbaum, plusieurs auteurs s'efforcèrent de préparer un sérum capable de lutter contre cette maladie.

## HISTORIQUE

Les premiers travaux dans ce sens sont à peu près contemporains. S. Flexner (1) et Jobling, aux États-Unis, Kolle et Wassermann (2), Jochmann (3), Ruppel (4) en Allemagne, Markl (5) en Autriche, firent connaître presque simultanément les résultats qu'ils obtinrent sur l'animal, puis sur l'homme.

Les applications à la thérapeutique humaine étaient encourageantes, et, dès la fin de 1907, sur les conseils de M. Roux, j'ai commencé à vacciner des chevaux contre le méningocoque.

En fin 1908 et au cours de l'année 1909, le sérum obtenu fut utilisé durant l'épidémie qui sévissait en France; le nombre des cas traités est suffisant pour qu'on puisse aujourd'hui juger de son efficacité.

Après quelques renseignements préliminaires sur la préparation du sérum antiméningococcique, j'envisagerai ses propriétés biologiques, sa valeur dans le traitement de la méningite méningococcique, ses modes d'action et d'emploi.

(1) FLEXNER, *Journal of. Americ. Association*, 1906, t. XLVII.

FLEXNER et JOBLING, *Journal of. Exp. medicine*, 1907, t. IX.

FLEXNER et JOBLING, *Journal of. Exp. medicine*, juillet 1908.

(2) KOLLE et WASSERMANN, *Deutsche med. Wochenschrift*, 19 avril 1906 [et sept. 1907, n° 39.

(3) JOCHMANN, *Congrès de Munich*, 23-26 avril 1906.

(4) RUPPEL, *Deutsche med. Woch.*, 23 août 1906.

(5) MARKL, *Centrabl. f. Bacteriologie*, 1906, t. XLIII.



## PRÉPARATION DU SÉRUM

Les procédés d'immunisation des chevaux présentent quelques différences suivant les auteurs.

Au début, Flexner injectait d'abord sous la peau des cultures mortes, puis vivantes, de méningocoques, obtenues sur agar ordinaire. Puis il substituait les injections intraveineuses aux injections sous-cutanées. En même temps il inoculait à dose progressive les extraits autolytiques des cultures. Plus tard, en raison des nombreux accidents observés chez les animaux, il réduisit puis abandonna les inoculations intraveineuses. Actuellement, il n'emploie donc plus que la voie hypodermique.

Kolle et Wassermann immunisent trois chevaux : le 1<sup>er</sup> reçoit sous la peau d'abord, dans les veines ensuite, des cultures mortes, puis vivantes d'un seul méningocoque bien authentique; le 2<sup>e</sup> reçoit dans les mêmes conditions des cultures de plusieurs échantillons de méningocoques; enfin un 3<sup>e</sup> cheval est vacciné sous la peau, puis dans les veines à l'aide de l'extrait d'un seul méningocoque. Le mélange, à parties égales, du sérum de ces trois chevaux constitue le sérum antiméningococcique, employé en thérapeutique humaine.

En ce qui me concerne, j'ai commencé la vaccination par le procédé de Kolle et Wassermann, cherchant à obtenir ainsi un sérum antimicrobien et antitoxique. Plus tard, l'expérience m'ayant montré qu'un sérum exclusivement antimicrobien est aussi antiendotoxique que le sérum antitoxique lui-même, j'abandonnai complètement les injections de liquide d'autolyse.

*Technique.* — La technique que j'utilise actuellement est la suivante : On injecte sous la peau d'abord l'émulsion microbienne vivante, provenant de un puis deux tubes d'agar. Les injections sont ensuite pratiquées dans les veines : on inocule l'émulsion de 1, 2, 3 tubes d'agar, puis 1/4, 1/3, 1/2, 3/4 de boîte de Roux, 1 boîte entière, etc. Ces vaccinations à dose progressive sont effectuées tous les 7 jours. Quand les chevaux les supportent bien, on peut leur injecter 1 boîte 1/2, voire même 2 boîtes. Pour obtenir un sérum polyvalent, j'emploie des méningocoques authentiques, et des méningocoques différents des premiers par leur agglutinabilité et l'intensité du pouvoir fer-

mentatif sur les sucres. Chaque cheval est vacciné au moyen d'une trentaine d'échantillons de méningocoques.

*Réactions des chevaux.* — Les injections sous-cutanées (1 à 2 tubes d'agar) sont suivies d'un œdème assez intense qui rétrocede rapidement; la fièvre est habituellement peu élevée (38°, 39° au plus), et ne se prolonge que quelques jours. Quand les inoculations sont plus abondantes (1/4, 1/2 boîte, etc.) l'œdème est considérable, s'étend fort au loin : parfois des abcès stériles se forment; la fièvre dure environ une semaine.

Chaque injection intraveineuse est suivie d'une élévation de température (39°, 40°, 41°) qui disparaît le lendemain, ou, au plus tard, après 48 heures. On observe en même temps de l'inappétence, et une diarrhée parfois assez abondante.

Certains chevaux supportent bien cette vaccination jusqu'au moment où ils peuvent fournir un sérum efficace (en 4 mois environ). Chez d'autres, au contraire, l'immunisation est fertile en incidents divers qui la rendent difficile à poursuivre :

En général, après 3 mois de tolérance, ou plus tôt encore, certains chevaux paraissent *sensibilisés* à l'action des cultures vaccinales. Alors, immédiatement après l'injection, ils présentent du vertige, marchent d'une manière hésitante, fléchissent sur le train postérieur, mais se rétablissent presque aussitôt.

Ces troubles sont souvent beaucoup plus marqués. Après quelques contractures, l'animal s'affaisse brusquement sur le train postérieur et tombe; il présente une dyspnée violente; les nasaux battent vivement, les globes oculaires sont congestionnés; une angoisse, une anxiété violente se manifeste. Après quelques minutes, ces phénomènes s'atténuent pour disparaître complètement : le cheval se relève, sa marche, hésitante encore, ne tarde pas à redevenir normale; la dyspnée dure habituellement 1/2 heure à 1 heure..

Enfin, les troubles peuvent être plus graves encore : aux phénomènes précédents s'ajoute du collapsus, et la mort survient 20 à 40 minutes après l'inoculation. En certains cas elle est foudroyante. L'autopsie ne révèle aucune lésion appréciable.

Ces accidents ne peuvent que traduire l'anaphylaxie microbienne.



## PROPRIÉTÉS BIOLOGIQUES

Comme tous les sérums thérapeutiques, le sérum anti-méningococcique possède des propriétés biologiques spécifiques.

Il contient : 1° des *agglutinines spécifiques* pour le méningocoque et aussi des *co-agglutinines* pour les pseudo-méningocoques, le gonocoque, etc., ainsi que le prouve la saturation des agglutinines ;

2° Des *précipitines* qui se décèlent lorsqu'on mélange le sérum en proportion minime avec un extrait méningococcique ; le mélange, laissé à la température du laboratoire, se trouble d'abord, puis donne lieu à un précipité qui se collecte au fond du tube d'expérience. Le même précipité se produit avec des extraits de pseudo-méningocoques, *diplococcus crassus*, gonocoque, etc. L'épreuve de la saturation des précipitines montre qu'il s'agit en ce cas de *co-précipitations*, ou précipitations de groupe.

Le sérum chauffé à 55° à plusieurs reprises perd en grande partie son pouvoir précipitant.

3° Des *ambocepteurs spécifiques*, dont l'existence est prouvée par la recherche de la déviation du complément, en utilisant soit le procédé primitif de Bordet-Gengou, soit la réaction que Wassermann et Bruck ont employée pour la séro-diagnostic de la syphilis. La déviation du complément se produit également bien avec une émulsion microbienne et l'autolysat. Elle ne s'effectue qu'avec le méningocoque ; les germes similaires (pseudo-méningocoques) ou voisins (gonocoque, *dipl. Crassus*) donnent toujours des résultats négatifs.

Les auteurs américains, Flexner entre autres, ont étudié le *pouvoir opsonisant* du sérum anti-méningococcique : ils l'ont trouvé très élevé comparativement au sérum de cheval normal. Flexner et Jobling utilisent cette propriété pour apprécier sa valeur thérapeutique.

D'après les recherches de Neufeld, Kraus, le sérum possède des *propriétés bactériotropiques*. Neufeld estime même qu'elles peuvent servir à déterminer son pouvoir curatif. Par contre, il ne présenterait aucun *pouvoir bactéricide*.

Les *propriétés antitoxiques* peuvent être mises en évidence en injectant dans le péritoine de jeunes cobayes de 150 grammes un mélange *in vitro* de sérum et d'extrait microbien (Kolle et Wassermann, Kraus).

En général, 1 c. c. de sérum peut neutraliser dans ces conditions 5 doses mortelles d'endotoxime méningococcique.

Ces résultats s'observent à l'aide du sérum obtenu par injections progressives de toxine; on les observe également avec un sérum provenant de chevaux immunisés par voie veineuse avec des cultures vivantes seules (Dopter).

Enfin, les expériences de Flexner montrent l'*action préventive et curative* du sérum sur la méningite cérébro-spinale *expérimentale* du singe. Les résultats, toutefois, ne paraissent pas constants, la dose mortelle de microbes introduits dans la cavité rachidienne pouvant varier avec chaque animal.

### EFFETS DU SÉRUM ANTI-MÉNINGOCOCCIQUE DANS LE TRAITEMENT DE LA MÉNINGITE CÉRÉBRO-SPINALE

L'expérience acquise atteste la haute valeur curative du sérum antiméningococcique dans le traitement de la méningite cérébro-spinale et des manifestations extra-méningées de la méningococcie. Son action est nulle dans les méningites de toute autre nature (tuberculeuse, pneumococcique, streptococcique, etc.).

L'efficacité du sérum dans le traitement de la méningite repose sur les faits suivants :

- 1° La diminution de la mortalité due à cette affection ;
- 2° Ses effets directs sur les divers symptômes observés dans chaque cas particulier ;
- 3° La réduction de la durée de la maladie, et la rareté des séquelles.

#### I. — DIMINUTION DE LA MORTALITÉ.

La méningite cérébro-spinale est une infection grave; si en certains épisodes sa léthalité atteint à peine 30 0/0, en d'autres, on la voit fréquemment s'élever à 70, 80 et même 100 0/0. D'une façon générale on estime que la mortalité moyenne, quand la méningite sévit à l'état épidémique, oscille entre 60 et 80 0/0. Chez les enfants de moins d'un an, elle est plus sévère encore, car elle approche de 100 0/0.

Un des effets les plus remarquables de la sérothérapie anti-



méningococcique est la diminution considérable de cette mortalité. Plusieurs statistiques importantes l'affirment de la façon la plus nette :

Flexner, réunissant tous les cas traités par son sérum, comptait 442 cas (1) ayant donné 147 décès, soit une mortalité globale de 33 0/0. De ce chiffre, il défalque 49 cas où le sérum a été injecté pour des atteintes foudroyantes, ou sur des moribonds et en des cas où la mort est survenue à la suite d'une infection intercurrente.

Dans ces conditions, il reste 393 cas avec 98 décès, soit 25,4 0/0.

Donc, mortalité globale : 33 0/0.

Mortalité rectifiée : 25,4 0/0.

Or, pendant les années précédentes, et durant la période où ces essais ont été tentés, les atteintes non traitées par le sérum ont donné une mortalité incomparablement plus élevée, oscillant entre 70 et 80 0/0 (G. Robb : 72,3 0/0; Ker : 80,5 0/0; Dünn : 70 0/0).

Entre les mains de Krohne, Lévy, Hohn, Többen, Em. Crocco, le sérum de Kolle et Wassermann a fourni les résultats suivants (2) :

Krohne.....	22 cas, 6 décès.
Lévy.....	41 — 5 —
Hohn.....	44 — 5 —
Többen { 1907.....	29 — 10 —
{ 1908.....	15 — 4 —
E. Crocco.....	10 — 2 —

158 cas, 29 décès, soit 18.35 %.

Avec le sérum de Jochmann, Schone a pu abaisser la mortalité de 53 à 27 0/0 (Raczinski cependant n'aurait observé aucun effet favorable).

Jehle (1), utilisant le sérum de Markl, la voit diminuer de 80 0/0 à 45 0/0.

(1) Dans ces 442 atteintes sont compris les cas déjà publiés par :

G. ROBB, *The British med. Journal*, 31 oct. 1908.

G. B. KER, *Edinburgh med. Journal*, 30 oct. 1908.

CH. H. DUNN, *Boston med. a. surg. Journal*, 18 mars 1908.

H. KOPLIK, *Medical Record*, 3 oct. 1908.

L. EMMETT HOLT, *The British med. Journal*, 31 oct 1908.

S. CHURCHILL, *Arch. of Pediatrics*, oct. 1908.

FRANK FULTON, *Boston med. a. surg. Journal*, 5 nov. 1908.

SLADEN, *Journal of American med. Association*, 1908, n° 16.

(2) Nous omettons sciemment, dans ce relevé, les cas où les malades ont été traités par injections sous-cutanées, dont l'inefficacité est actuellement démontrée.

En France, au cours de l'épidémie qui a sévi en 1909, de nombreux cas ont été traités par le sérum de l'Institut Pasteur.

Pour juger de son efficacité, j'ai réuni toutes les observations publiées ou inédites, où seul il a été utilisé.

J'ai eu connaissance de 402 atteintes survenues en diverses régions de France. En certaines localités, la sérothérapie a été employée systématiquement chez tous les malades : en d'autres, les praticiens n'y ont eu recours que dans les cas graves et désespérés.

Or, ces 402 cas ont fourni 66 décès, soit une mortalité globale de 16,44 0/0. De ces atteintes on peut légitimement défalquer les cas où :

1<sup>o</sup> Le sérum a été injecté *in extremis*, et où le malade a succombé quelques heures après l'injection (17 cas);

2<sup>o</sup> Les malades ont succombé par suite d'affections étrangères à la méningite, les phénomènes méningés ayant complètement rétrocedé (2 cas).

Soit : 19 cas qu'on peut éliminer de la statistique. Restent donc 383 cas dont 47 se sont terminés par la mort.

Donc, Mortalité globale : 16,44 0/0.

Mortalité rectifiée : 12,27 0/0.

La comparaison de ce pourcentage avec celui des atteintes non traitées par le sérum (65 0/0 approximativement) à la même époque, est assez éloquente pour qu'on puisse, sans hésitation, croire à l'efficacité du sérum.

Divers facteurs influent sur le taux de léthalité :

Celle-ci varie suivant l'époque de la maladie à laquelle le sérum a été injecté : elle est d'autant moins élevée que le traitement a été institué de meilleure heure après le début des premiers symptômes. Le tableau suivant renseigne à cet égard.

	FLEXNER	NETTFR	DOPTER
Avant le 3 <sup>e</sup> jour.....	14,9 %	7,14 %	8,20 %
Du 4 <sup>e</sup> au 7 <sup>e</sup> jour.....	22 %	11,1 %	14,4 %
Après la 1 <sup>re</sup> semaine.....	36,4 %	23,5 %	24,1 %



L'âge des sujets traités constitue encore un facteur important :

	FLEXNER	NETTER	DOPTER
Malades de moins d'un an....	50 %	50 % —	48,6 %
— 1 à 2 ans.....	42,1 %	0 (6 cas)	20,1 %
— 2 à 5 ans.....	23,5 %	16,6 %	9,3 %
— 5 à 10 ans.....	41,4 %	12,5 %	8,5 %
— 10 à 20 ans.....	23,8 %	0 (8 cas)	10,2 %
— plus de 20 ans.....	26,4 %	0 (8 cas)	14,1 %

De ces statistiques, il résulte donc que la mortalité atteint son maximum chez les nourrissons : elle diminue progressivement dans les années suivantes pour atteindre son minimum vers l'âge de dix ans.

## II. — ATTÉNUATION DES SYMPTÔMES.

Les injections intrarachidiennes de sérum anti-méningococcique amènent en général après 24 ou 48 heures une sédation marquée de tous les symptômes.

Les phénomènes comateux, la céphalée, le délire, l'insomnie s'amendent en premier lieu : en même temps, la température s'abaisse pour revenir à la normale; la défervescence peut être brusque et se produire dès le lendemain de l'injection, ou bien elle s'effectue en lysis, demandant 3 à 4 jours pour descendre à 37° et s'y maintenir. Il n'est pas rare d'observer d'abord une légère exacerbation de la fièvre, bientôt suivie de la défervescence (tracés 1 et 2).

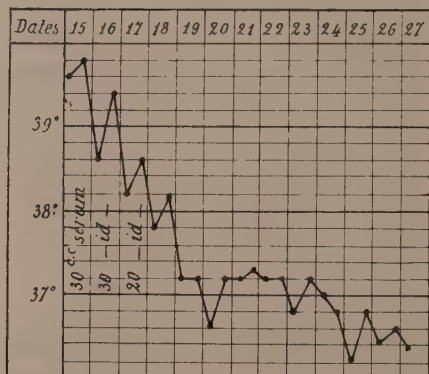
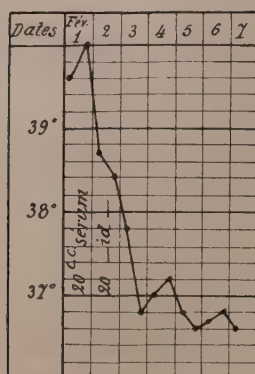
La raideur de la nuque, le signe de Kernig ne tardent pas à s'atténuer, mais persistent néanmoins assez longtemps et survivent à la disparition des autres symptômes.

Les troubles oculaires, auditifs, paralytiques, subissent le même amendement.

L'état général s'améliore parallèlement, la pâleur de la face, la déchéance organique profonde qu'on observe si fréquemment, les signes de toxémie disparaissent progressivement.

Enfin, l'amélioration peut s'apprécier d'une façon assez pré-

cise par l'examen du liquide céphalo-rachidien qui permet de suivre journellement l'état anatomique des méninges, et la rétrocession des lésions :



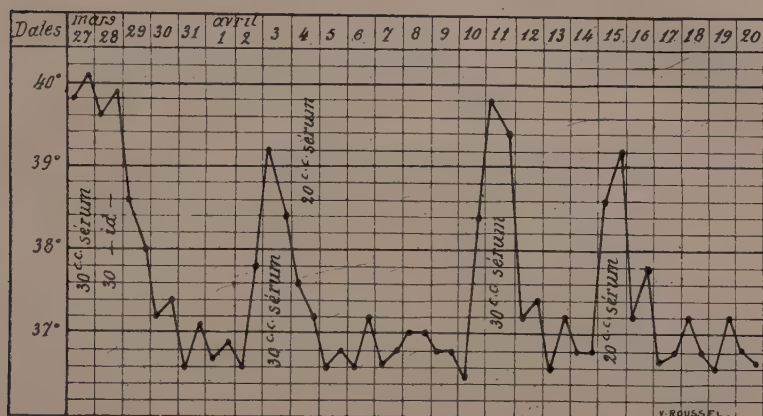
Les cellules conjonctives disparaissent; les polynucléaires dégénérés diminuent de nombre, et sont remplacés par des polynucléaires d'apparence normale; en même temps, les méningocoques deviennent plus rares; ceux qui persistent subissent une désintégration bactériolytique, se manifestant par le gonflement du protoplasma et son défaut de colorabilité; pratiquée à cette époque, une culture reste stérile. Finalement, les méningocoques disparaissent totalement. Puis les polynucléaires deviennent moins abondants, des mononucléaires s'y mêlent et bientôt s'installe une formule lymphocytaire annonçant la guérison prochaine.

Les recherches chimiques accusent encore le retour à l'état normal (1) : la teneur en albumine, glucose, etc. diminuent progressivement. Les produits de désintégration microbienne disparaissent, ainsi que le prouve la réaction négative des précipitines.

L'atténuation habituellement rapide des symptômes cliniques et la régression des altérations méningées (réactions biologiques et chimiques du liquide céphalo-rachidien) sont les témoins visibles de l'efficacité du sérum dans chaque cas particulier. La preuve en est plus saisissante encore dans les formes où des rechutes successives se produisent dès que les injections sont suspendues : à chaque nouvelle intervention on voit les phé-

(1) MUSTREZAT et H. ROGER, *Soc. de Biologie*, juillet 1909

nomènes méningés rétrocéder. Le tracé n° 3 est à cet égard très démonstratif.



Telle est, d'une façon générale, la marche de l'amélioration qui se produit; mais les symptômes ne rétrocedent pas toujours d'une manière aussi régulière; leur atténuation subit parfois une véritable dissociation: la température s'abaisse alors que les phénomènes nerveux persistent; ou bien les troubles méningés cessent, l'état général restant précaire (1); ces éventualités peuvent aider le thérapeute pour lui dicter ou lui faire différer une nouvelle intervention.

Enfin, il faut reconnaître que, malgré un traitement sérothérapique rationnellement conduit, certaines atteintes de méningite méningococcique semblent peu bénéficier de la médication spécifique: l'action du sérum est alors lente et paresseuse; chez certains malades même, il ne paraît avoir aucune action bienfaisante. Ce sont des cas où:

(1) On peut, avec Lévy, distinguer 3 types suivant lesquels l'action du sérum se fait sentir:

1<sup>er</sup> type. La chute de température commence après l'injection de sérum; elle s'effectue en crise ou en lysis. En même temps, l'état général s'améliore, la céphalée cesse; la contracture de la nuque, le kernig s'atténuent, puis disparaissent plusieurs jours après.

2<sup>e</sup> type. La fièvre peut rester élevée et même s'élever pendant les jours qui suivent l'injection. Cependant l'état général s'améliore; la céphalée et les symptômes cardinaux rétrocedent.

3<sup>e</sup> type. Moins typique pour prouver l'efficacité du sérum: on ne note d'abord aucun changement brusque dans le caractère de la maladie; quelques jours plus tard, seulement, se dessine lentement l'amélioration de la fièvre, de l'état général, et des divers symptômes.



1° L'affection revêt une forme foudroyante;

2° Le sérum est injecté trop tardivement;

3° Il s'agit de formes septicémiques ou hypertoxiques, habituellement très graves, se révélant par l'existence de pétéchies très abondantes, se compliquant de localisations méningococciques extra-méningées (broncho-pneumonie, péricardite, néphrite, etc.);

4° Les phénomènes cérébraux sont très marqués, et correspondent à des lésions siégeant surtout à la convexité, et paraissent peu accessibles à l'action du sérum;

5° Dans une autre catégorie de malades, le sérum a amené dès les premiers jours, une détente accusée : bientôt les phénomènes méningés réapparaissent à plusieurs reprises, cédant chaque fois, mais partiellement, à une ou plusieurs injections de sérum. Puis, au bout d'un certain temps, les phénomènes semblent passer à l'état chronique et le méningocoque ne disparaît pas du liquide céphalo-rachidien; en un mot, le sérum est impuissant à juguler les accidents. On ignore la raison de pareils faits; en attendant mieux on peut supposer qu'il s'agit de complications sous-corticales, d'encéphalite non suppurée, ou de petits abcès secondaires logés à la surface ou dans la profondeur du cerveau (1), et qui échappent à l'action directe du sérum. Ou bien, le sérum, diffusant incomplètement ne peut se rendre aux ventricules ou vers les *plexus choroïdes* où le méningocoque se cantonne fréquemment.

### III. — RÉDUCTION DE LA DURÉE DE LA MALADIE ET DIMINUTION DES SÉQUELLES.

D'une façon générale, la méningite cérébro-spinale traitée par le sérum antiméningococcique dure incomparablement moins longtemps qu'avec les traitements usuels. Certes, il est encore des atteintes rebelles qui se prolongent 2, 3, 4 semaines : mais on peut estimer qu'en moyenne sa durée n'excède pas huit à douze jours.

La convalescence est plus courte et moins pénible : l'état général, si atteint d'ordinaire, se remet plus rapidement de l'épreuve qu'il vient de subir; le malade ne présente d'ailleurs plus cette figure sans vie, ce regard terne, indifférent, ces traits tirés, immobiles qui constituaient le masque spécial des ménin-

(1) Plusieurs examens nécropsiques en font foi.

gitiques guéris par les moyens dont on disposait autrefois (Salebert) (1).

La rareté des séquelles de la méningite cérébro-spinale traitée par le sérum est une conséquence de cette réduction de la maladie. L'application du sérum ne leur laisse pas, en général, le temps de se développer :

Avant le traitement sérothérapique, Netter observait 23 0/0 de séquelles; en maints épisodes épidémiques, nombre d'auteurs ont observé jusqu'à 70 et 80 0/0 de ces complications (surdité, cécité, paralysies diverses) entraînant le plus souvent des infirmités définitives et incurables. Avec la sérothérapie, Flexner ne relève que 2,56 0/0 de séquelles, Netter, 7,5 0/0. Les 402 atteintes traitées par le sérum de l'Institut Pasteur n'en ont fourni que 6,20 0/0; les plus nombreuses sont des lésions de l'oreille interne. Elles ne s'observent guère que chez les sujets présentant déjà une complication avant les premières injections de sérum.

### MODE D'ACTION DU SÉRUM ANTI-MÉNINGOCOCCIQUE

Introduit par la voie rachidienne, le sérum antiméningococcique agit : 1<sup>o</sup> directement sur les lésions méningées; 2<sup>o</sup> à distance sur l'organisme en général.

#### I. — ACTION DIRECTE SUR LES LÉSIONS MÉNINGÉES.

L'action locale du sérum sur les méninges peut s'apprécier par les modifications du liquide céphalo-rachidien : disparition des globules pyoïdes, exode de polynucléaires neufs, enfin et surtout désintégration et disparition du germe spécifique.

La plupart des auteurs insistent sur les changements morphologiques que subissent le méningocoque, et les attribuent à l'action bactériolytique du sérum. Ce dernier présenterait encore un pouvoir neutralisant sur l'endotoxine mise en liberté dans le liquide céphalo-rachidien (2).

Mais on peut tout aussi bien supposer que le sérum agit en excitant la phagocytose : l'appel de polynucléaires intacts en est la preuve. Les figures de bactériolyse microbienne peuvent s'expliquer par la digestion intracellulaire des méningocoques

(1) SALEBERT, *Société médicale des hôpitaux*, 21 mai 1909.

(2) Les résultats négatifs de la précipito-réaction après l'injection de sérum plaident en faveur de cette hypothèse.

phagocytés. Enfin, on peut admettre que l'endotoxine libre est absorbée et détruite par le même mécanisme.

## II. — ACTION SUR L'ORGANISME EN GÉNÉRAL.

Le sérum antiméningococcique n'agit pas seulement par action directe sur la méninge : grâce à la perméabilité connue de la séreuse de dedans en dehors, il passe dans la circulation, et peut agir secondairement sur toutes les cellules de l'organisme, à la façon des autres sérums, introduits sous la peau.

Sa diffusion dans la circulation générale est prouvée par les constatations de Netter et Debré (1); à l'aide de la réaction de H. Lemaire, ils ont décelé la présence du sérum de cheval dans le sang des sujets traités par la voie rachidienne; d'après eux, l'absorption est aussi rapide qu'après l'injection sous-cutanée. D'ailleurs, les accidents sériques surviennent comme après les injections hypodermiques (Netter et Debré).

Enfin, un fait récemment observé par Netter (2) confirme ces notions : il s'agit d'une méningococémie *sans méningite*, traitée avec succès par le sérum introduit par la voie rachidienne; le sérum a donc franchi la barrière méningée pour envahir la circulation et lutter efficacement contre la septicémie. D'ailleurs, un certain nombre d'observations montrent que les phénomènes toxi-infectieux qui accompagnent la méningite, sont favorablement influencés par l'injection intrarachidienne de sérum : l'amélioration parfois rapide de l'état général, la disparition des éruptions pétéchiales, de l'albuminurie, etc. en constituent des preuves manifestes.

Par conséquent, l'efficacité du sérum se fait sentir non seulement sur la lésion locale, mais encore sur les troubles extra-méningés dus à la dissémination du méningocoque dans l'organisme.

Cette action du sérum anti-méningococcique présente un *caractère de spécificité non douteux*; dans les cas de méningite en effet, où l'agent infectant est non le vrai méningocoque, mais un des pseudo-méningocoques connus, l'efficacité du sérum est alors nulle.

Quelques auteurs cependant ont pensé que d'autres sérums,

(1) NETTER et DEBRÉ, *Société de Biologie*, 28 mai 1909 et 10 juillet 1909.

(2) NETTER, *Académie de Médecine*, 27 juillet 1909.



notamment le sérum antidiphthérique, étaient doués de propriétés thérapeutiques équivalentes à celles du sérum antiméningococcique. Netter, avec juste raison, a réfuté cette opinion en citant les faits relevés par Peadoby et Jacobi, Wolff, Draper, Kinnicut, Leszinski, Loomis, Van Santwoord, Emmet Holt, Graner, Rotsch, Park.

Entre leurs mains, l'emploi du sérum antidiphthérique dans le traitement de la méningite méningococcique a donné une mortalité moyenne de 70 à 80 0/0. Les quelques succès enregistrés ne sont dus qu'à d'heureuses coïncidences.

### MODE D'EMPLOI

Il ne suffit pas d'employer la sérothérapie antiméningococcique; il faut savoir l'appliquer :

1. *Voie d'introduction du sérum.* — Les premiers essais ont été tentés par la voie sous-cutanée. Quelques statistiques prouvent l'inefficacité de cette méthode :

	MORTALITÉ sans sérum.	MORTALITÉ après injections sous-cutanées.
W. Schultz.....	53,7 %	56,3 %
Többen.....	56,7 %	51,5 %
Huber.....		55,9 %
Ch. Müller.....	73,3 %	73 %
G. Robb.....	72,3 %	74 %
Currie.....	70,1 %	64,76 %

Ces faits s'expliquent aisément par le peu de perméabilité des méninges de dehors en dedans.

Pour la même raison, la voie intraveineuse n'offre aucun avantage.

Pour être réellement actif, le sérum doit être mis *en contact direct* avec la méninge malade, et introduit par la *voie rachidienne* après ponction lombaire. On a vu plus haut tous les succès enregistrés depuis que cette technique a été mise en œuvre.

Il est cependant des cas où les lésions semblent inaccessibles à l'action du sérum introduit par cette voie, puis d'autres où un

défaut entre les lacs spinaux et cérébraux l'empêche de diffuser jusqu'aux centres supérieurs; pour atteindre directement la lésion, certains auteurs ont pratiqué des *injections intraventriculaires* en traversant la fontanelle non encore soudée des nourrissons. Avec cette méthode Harvey, Cusingh et Sladen, Netter ont enregistré des succès; mais elle ne saurait être appliquée à l'adulte. Pour ce dernier, une injection sous-arachroïdienne après trépanation crânienne pourrait être tentée. Ou bien on pourrait avoir recours à la voie sphénoïdale, comme Bériel l'a récemment proposé (1). Ces divers procédés ne sauraient être que des procédés d'exception, à n'appliquer que dans les cas désespérés où l'échec de la sérothérapie par voie rachidienne est notoire.

Dans l'immense majorité des cas, c'est cette dernière qu'il convient d'adopter.

2. *Mode d'administration du sérum.* — Le succès de la sérothérapie antiméningococcique dépend en grande partie de la façon dont le traitement a été conduit. Deux facteurs entrent en ligne de compte pour l'assurer : la *dose*, et la *répétition des doses*.

a) *Doses.* — Tous les auteurs insistent sur la nécessité d'injecter des doses élevées, même chez l'enfant.

Chez l'adulte, on peut aisément injecter 20, 30, 40 et même 45 c. c. de sérum dans le canal rachidien, après avoir, autant que possible, soustrait préalablement par ponction lombaire, une quantité égale de liquide céphalo-rachidien. Chez l'enfant, même au-dessous d'un an, on arrive facilement à injecter 10, 15, 20 et même 30 c. c. (2).

b) *Répétition des doses.* — Sauf dans les atteintes légères, il est rare qu'une seule injection, même à dose élevée, soit capable de juguler complètement la maladie. Après une seule injection tous les symptômes peuvent s'atténuer au point que l'on juge inutile une nouvelle intervention; on croit le malade guéri; mais dès le lendemain, ou le surlendemain, une recrudescence de la température et des phénomènes méningés se déclara-

<sup>1</sup> (1) BÉRIEL, *Soc. méd. des Hôp. de Lyon*, 18 mai 1909. *Lyon chirurgical*, 1<sup>er</sup> août 1909.

(2) Certains auteurs (Netter, Comby, R. Voisin) ont pu chez l'enfant injecter ces doses, en ne soustrayant que 4 à 5 c. c. de liquide, sans qu'il en soit résulté de phénomènes de compression, qu'il y aurait lieu de craindre chez l'adulte.

rent; de nouvelles injections sont nécessaires. Certains malades doivent recevoir ainsi du sérum à de multiples reprises pour que la guérison soit définitive.

Pareils faits peuvent s'expliquer : d'après Netter et Debré, le sérum introduit dans le canal rachidien, passe rapidement dans la circulation générale; en raison de cette résorption si hâtive, il ne reste en contact avec les lésions méningées qu'un temps relativement limité, trop restreint sans doute pour enrayer d'emblée les altérations parfois étendues de la méningite cérébro-spinale.

On peut répéter les injections de sérum suivant deux méthodes :

Les uns (Kolle et Wassermann, Koplik, Emmett Holl, Comby) pratiquent une première injection : si aucune amélioration notable ne se produit, ils la renouvellent jusqu'à ce qu'elle se dessine nettement; si les symptômes s'amendent, ils s'abstiennent et attendent que l'amélioration ne progresse plus pour la répéter.

Pour les autres (Dünn, Churchill, Lévy, Netter), il est préférable d'injecter systématiquement 20, 30, c. c., etc., de sérum durant 3 ou 4 jours consécutifs, même quand la 1<sup>re</sup> injection a produit une détente marquée du côté de la température et des signes méningés. D'après Netter, les *injections répétées systématiquement* présentent l'immense avantage d'amener des guérisons plus nombreuses et plus rapides, de rendre plus rares les rechutes et les séquelles.

Néanmoins, quel que soit le procédé employé, il est des cas où les symptômes, bien qu'atténués, persistent malgré les injections fréquemment renouvelées.

Sur quels éléments d'appréciation peut-on s'appuyer pour décider soit une nouvelle intervention, soit l'abstention?

On a tendance à baser sa ligne de conduite sur la courbe de température. Or, celle-ci est un guide infidèle : dans un certain nombre de cas, sa chute, brusque ou progressive, participe à une détente générale de tous les phénomènes observés ; mais en d'autres, le reste des symptômes ne variant pas, elle n'indique qu'une détente partielle. De plus, dans certaines atteintes graves, la fièvre est parfois peu marquée, voire même nulle. Enfin, la température peut rester élevée alors que tous les autres



symptômes rétrocedent; elle constitue donc un indice trompeur.

Il est assurément préférable de baser son appréciation sur l'ensemble des symptômes observés, mais ceux-ci sont souvent trop variables et disparates pour qu'on puisse en faire état.

L'aspect macroscopique et microscopique du liquide céphalo-rachidien donne les indications beaucoup plus utiles et plus certaines. Il est pour ainsi dire le reflet des altérations dont les méninges sont le siège. Son étude permet de suivre pas à pas leur marche, leur aggravation, leur atténuation; elle fournit des données d'après lesquelles on peut, dans la grande majorité des cas, orienter sa ligne de conduite; quelques exemples le montreront :

1<sup>o</sup> Malgré la détente des symptômes observés, le liquide céphalo-rachidien, louche ou même clair, contient des leucocytes et des méningocoques morphologiquement sains; l'ensemencement est positif. Dans ce cas, le processus méningé est encore en évolution : de nouvelles injections de sérum s'imposent;

2<sup>o</sup> Après plusieurs injections quotidiennes, la température reste élevée, et malgré l'atténuation des autres symptômes, le liquide céphalo-rachidien contient, non plus des méningocoques vivants, mais des cadavres de méningocoques; les globules pyoïdes ont disparu, remplacés par des polynucléaires normaux, et des lymphocytes. En ce cas, la lésion est en résolution (2); une nouvelle injection n'est pas nécessaire; elle ne sera indiquée que si, les jours suivants, l'aspect du liquide céphalo-rachidien montre une recrudescence du processus;

3<sup>o</sup> Après plusieurs injections, l'apyrexie est établie, tous les symptômes méningés ont disparu. Brusquement, la température s'élève, la raideur de la nuque, la céphalée surviennent à nouveau. S'agit-il d'une rechûte ou de phénomènes d'anaphylaxie? L'examen du liquide céphalo-rachidien donne la réponse. Dans le

(1) On sait que les phénomènes d'anaphylaxie survenant après les injections intrarachidiennes de sérum, se révèlent souvent par des troubles méningés qui en imposent pour une reprise des troubles primitifs. Ils ne sont pas spéciaux à la méningite cérébro-spinale. Lemoine (de Lille) en a observé chez un tabétique à qui il avait pratiqué une injection intrarachidienne de sérum antidiphthérique.

(2) En certains cas cependant, le liquide, après plusieurs injections, est devenu clair et dépourvu d'éléments cellulaires et bactériens, malgré la persistance des symptômes méningés, répondant sans doute à des lésions très localisées des méninges cérébrales. Dans ces faits, exceptionnels il est vrai, il est prudent de pratiquer de nouvelles injections.

premier cas, la formule cytologique et bactériologique en fournira la preuve; les injections doivent être reprises. Dans le second, le liquide est clair, teinté souvent en jaune ambré par le sérum non résorbé; les éléments cellulaires et les microbes sont absents, ou bien on se trouve en présence d'une formule de régression : l'abstention s'impose alors.

Ces quelques exemples suffisent à montrer tout le parti qu'on peut tirer de l'examen du liquide céphalo-rachidien.

En résumé, la sérothérapie demande à être conduite d'une façon rationnelle, et doit, pour être efficace, reposer sur les bases précitées. Les doses de sérum injecté doivent être : 1<sup>o</sup> suffisantes; 2<sup>o</sup> suffisamment répétées; 3<sup>o</sup> judicieusement administrées. Dans le cas contraire, on s'expose à des échecs; la mortalité des malades traités par le sérum varie d'ailleurs suivant la façon dont le traitement a été institué; on peut aisément s'en rendre compte en comparant, dans 359 observations dont j'ai pu connaître les détails relatifs au mode de traitement :

1<sup>o</sup> Les cas où le sérum a été injecté en quantité suffisante, et les doses suffisamment répétées; .

2<sup>o</sup> Ceux qui ont été traités d'une manière défectueuse (malades n'ayant reçu qu'une injection (1) malgré la gravité des symptômes ou bien de multiples injections, mais trop parcimonieuses et trop espacées, les phénomènes méningés persistant dans leur intervalle).

Dans la 1<sup>re</sup> catégorie, on relève :

282 cas; 23 décès = 8,15 0/0.

Dans le 2<sup>e</sup> :

77 cas : 21 décès = 27,2 0/0.

La comparaison de ces chiffres montre qu'il ne suffit pas d'injecter du sérum; il faut l'injecter en *quantité suffisante*, à *doses répétées*, enfin l'employer à bon escient.

(1) M. Netter a insisté avec juste raison sur ces cas où les injections ont été suspendues pendant 15 à 20 jours, malgré la persistance des symptômes méningés. « Une ponction lombaire pratiquée en pareil cas aurait permis d'examiner le liquide céphalo-rachidien, et, si l'on avait constaté le méningocoque, les injections reprises à temps auraient pu amener la guérison. » (*Acad. de Médecine*, juillet 1909.)

# Diphtérie expérimentale chez le Chimpanzé

PAR ET. BURNET

(Laboratoire de M. METCHNIKOFF)

---

Les angines sont depuis quelque temps assez négligées par les bactériologistes. Cependant elles tiennent une place notable dans la pathologie humaine et on reconnaît leur importance au point de vue clinique. Elles marquent le début de diverses maladies infectieuses. Les amygdales, notamment, sont considérées comme la porte d'entrée de plusieurs virus. L'étude de la flore buccale, normale et pathologique, mérite d'être le préambule des recherches sur la flore intestinale, et doit donner d'utiles renseignements sur l'origine de maladies telles que les appendicites et certaines néphrites. Le fait que les angines sont très rares chez les nourrissons indique qu'elles dépendent de conditions qu'il y aurait intérêt à déterminer par l'observation et par l'expérience.

L'anginediphtérique est celle qui convient le mieux pour commencer une étude de ce genre, parce qu'elle est due à une bactérie des mieux étudiées et des mieux connues. Et comme, malgré le pouvoir curatif et préventif du sérum, les hygiénistes ont encore à déplorer de trop fréquentes épidémies, il y a toujours profit à examiner de plus près les conditions dans lesquelles éclôt cette maladie meurtrière.

Il y a deux points principaux sur lesquels doit se porter l'attention : 1<sup>o</sup> le rôle des lésions mécaniques des muqueuses; 2<sup>o</sup> le rôle des associations microbiennes. Ces deux problèmes ont été posés depuis bien longtemps par les auteurs qui ont fondé l'étude expérimentale de la diphtérie. « Toutes les expériences sur les animaux, disent ROUX et YERSIN dans leur premier mémoire (1), tendent à prouver que le microbe de la diphtérie ne se développe que sur une muqueuse déjà malade... Il est nécessaire pour donner la maladie de léser la muqueuse, un simple badigeonnage sur

(1) *Ann. Institut Pasteur*, t. II, déc. 1888.



une muqueuse saine ne suffit pas à produire la fausse membrane croupale. » Et ailleurs, à propos du streptocoque (1) : « D'autres microbes, sans doute, pourraient servir à exalter la virulence du bacille affaibli. Les organismes microscopiques de la bouche et ceux des fausses membranes devraient être étudiés à ce point de vue. »

Il était indiqué d'étudier en premier lieu le rôle des lésions. Dès les premières expériences avec le bacille de Löffler, on a essayé de produire des fausses membranes sur la vulve des cobayes, sur l'oreille et sur la muqueuse trachéale des lapins, sur la muqueuse buccale des pigeons; c'est peut-être dans ce dernier cas qu'on réussit le plus sûrement, lorsqu'on cherche à répéter ces expériences. Mais ayant eu à notre disposition plusieurs chimpanzés de la singerie de l'Institut Pasteur, il nous a paru beaucoup plus intéressant d'opérer sur cette espèce, la plus rapprochée de l'homme. Agés de trois ans environ, présentant des amygdales de divers types, enchatonnées ou proéminentes, nos chimpanzés peuvent être en somme considérés comme des enfants en expérience.

Le matériel d'inoculation a consisté, d'une part en cultures pures de bacilles diphtériques, d'autre part en fausses membranes, employées aussitôt après avoir été prélevées sur le malade humain. Trois modes d'inoculation ont été appliqués : friction avec la fausse membrane ou badigeonnage au pinceau avec la culture sur la muqueuse intacte et spécialement sur les amygdales; même opération sur la muqueuse lésée; insertion dans la fosse nasale inférieure.

Pour léser la muqueuse, on faisait un grattage ou des scarifications, ou des piqûres avec une lancette; dans un cas, la muqueuse a été tenaillée sur un point entre les mors d'une pince. Une fois, on a fait des attouchements (suivis de lavage) avec une solution forte d'acide phénique; une autre fois, avec acide lactique. Il a été fait 17 essais sur 9 chimpanzés. Plusieurs essais sur des singes inférieurs, macaques javanais et bonnets chinois, ont été négatifs : il n'y a eu ni lésions locales, ni maladie générale. Le bacille diphtérique pouvait être encore cultivé de la bouche après 12 jours. Il est donc évident qu'un sujet pratiquement réfractaire peut être un porteur de bacilles.

(1) *Ann. Institut Pasteur*, t. IV, p. 409.

Rien n'autorise à croire que des hommes ou des enfants se comporteraient autrement que les chimpanzés. Si l'on contestait la valeur du chimpanzé comme sujet d'expérience pour les maladies humaines, il n'y aurait qu'à répondre que l'homme même, à ce compte, ne saurait servir davantage. Récemment, BERTARELLI (1), avec la sérosité d'une vésicule toute jeune et avec une pustule desséchée, n'est pas parvenu à donner la varicelle à lui-même, à un assistant de son laboratoire et à une fillette de huit ans. Dans un pays très éloigné de l'Europe, on a tenté de donner à des hommes la fièvre typhoïde, la dysenterie bacillaire et le choléra et on n'y a pas encore réussi. Ces essais négatifs sont un argument indirect en faveur des expériences faites sur les singes anthropoïdes pour élucider l'origine des maladies infectieuses de l'homme.

Le chimpanzé est sensible à la diphtérie. Cinq inoculations sur 17 ont déterminé des lésions bénignes, ou très bénignes, consistant en un exsudat plus ou moins étendu, plus ou moins tenace, sur des points plus ou moins nombreux et renfermant des bacilles diphtériques associés à diverses bactéries. Dans un cas seulement, il y a eu des lésions très vastes; l'animal a succombé le 6<sup>e</sup> jour après l'inoculation. Il est difficile d'affirmer qu'il a succombé uniquement à la diphtérie, car il était déjà malade et arrivé au point où l'on voit mourir beaucoup de chimpanzés captifs. C'était un sujet affaibli; il n'a pu opposer au bacille la résistance naturelle qui paraît considérable chez les chimpanzés bien portants.

Si le chimpanzé, en effet, peut prendre la diphtérie, il ne la prend pas facilement : 11 inoculations sur 17 doivent être considérées comme négatives, et 5 sur 6 ont déterminé seulement des accidents très légers. Dans ces cas négatifs, aucun symptôme local ni général. Il va sans dire cependant que le bacille végété dans la bouche, d'où on peut encore l'isoler en cultures trois semaines après l'inoculation.

Même dans les cas que l'on a le droit de considérer comme positifs, il n'y a pas eu de symptômes généraux, pas de fièvre, pas d'élévation de température qui dépasse celles qui sont habi-

(1) *Rivista di Igiene e di San. pubblica*, t. XX, 1909, et *Centralbl. f. Bakter. Orig.*, t. L, p. 181.

tuelles chez les chimpanzés normaux; pas de tuméfaction des ganglions parotidiens ou sous-maxillaires.

Les traumatismes contribuent certainement à l'implantation du bacille sur la muqueuse, bien que tous les points traumatisés ne deviennent pas le siège d'une lésion. Il serait extraordinaire que la muqueuse buccale du chimpanzé se comportât autrement que celle des pigeons, que la trachée des lapins ou la vulve des cobayes. A part un cas où, 6 jours après application au pinceau d'une culture pure sur muqueuse intacte, il apparut sur une amygdale un exsudat grisâtre, qui demeura visible pendant 3 jours, toutes les inoculations avec le pinceau sont restées négatives.

Mais le plus notable résultat d'ensemble, au point de vue bactériologique, c'est que, sur muqueuse saine ou sur muqueuse excoriée, toutes les lésions, minimales ou étendues, ont suivi les inoculations avec fausse membrane. Les cultures pures n'ont rien donné; ni les cultures d'origine ancienne, entretenues au laboratoire sur milieu constant (bouillon Martin), comme celles qui servent, à l'Institut Pasteur, pour la préparation de la toxine; ni les cultures fraîchement isolées de fausses membranes et pathogènes pour le cobaye. Deux causes peuvent coopérer au succès des fausses membranes : des associations microbiennes s'y trouvent toutes réalisées; et le bacille qui provient d'une origine diphtérique en activité est un bacille déjà sélectionné. Il se peut fort bien que ces deux raisons n'en fassent qu'une. En tout cas, l'étude des associations microbiennes s'impose, comme l'ont dit les premiers ROUX et YERSIN; elle n'a été que commencée par les observations relatives au streptocoque; à l'étude des associations de la fausse membrane, il faut joindre celle de la flore buccale du sujet, réceptif ou résistant.

Les inoculations buccales, même avec fausse membrane fraîche sur muqueuse scarifiée, n'ont eu que des conséquences bénignes. Le seul chimpanzé qui ait présenté des lésions graves a été inoculé par friction douce, avec un lambeau de fausse membrane, dans la fosse nasale jusqu'à une profondeur de 3-4 centimètres, c'est-à-dire assez près du pharynx. L'inoculation intranasale a réalisé expérimentalement, chez ce chimpanzé, ce qui se produit spontanément dans beaucoup de diphtéries humaines. Le bacille pénètre dans les fosses nasales, s'y installe, cultive comme dans une étuve à température convenable, et fuse vers



l'arrière-bouche, dès que les circonstances sont favorables à son extension. Les lésions plus ou moins bénignes des autres chimpanzés montrent que, sans doute, les cryptes amygdaliennes offrent des réceptacles où le bacille peut végéter; mais on sait que, chez l'homme, il s'en faut de beaucoup que la fausse membrane débute toujours sur l'amygdale. Elle fait souvent son apparition sur les bords de la lucte. C'est là qu'elle a d'abord été visible chez ce même chimpanzé.

Cette expérience montre combien sont vraies les observations des cliniciens, qui mentionnent très souvent une rhinite ou un simple « rhume de cerveau » avant l'éclosion d'une diphtérie de l'arrière-bouche, et qui affirment l'existence de rhumes à bacilles diphtériques, même indépendamment de toute diphtérie avérée du nez ou du pharynx. La porte d'entrée peut être le nez, sans qu'il y ait diphtérie première du nez. Il n'est pas impossible que le mucus nasal soit jusqu'à un certain point bactéricide pour des microbes peu toxiques ou affaiblis; il ne détruit pas les bacilles actifs, ou défend seulement la muqueuse nasale et rejette la culture vers l'arrière-bouche. Le bacille provoque, dans le nez, plutôt un écoulement purulent qu'une fausse membrane.

D'autre part, chez les nourrissons, la diphtérie du nez passe pour plus fréquente que celle de la bouche, ce que MENSI attribue à une hypérémie de la muqueuse nasale dans la première enfance. Cette remarque s'accorde avec l'opinion d'après laquelle les nourrissons contractent rarement des angines, soit grâce à leur flore buccale, soit parce que la lactation les préserve des traumatismes sur la muqueuse du fond de la bouche, soit parce qu'ils ont les amygdales moins développées. Quoi qu'il en soit, au point de vue de l'hygiène, lorsqu'on pratique des examens et desensemencements méthodiques pour dépister les porteurs de bacilles, il n'y a d'examen valables que ceux qui portent sur le nez en même temps que sur la bouche. On insinuera un petit tampon d'ouate par la narine, ou mieux on passera par la bouche et on ira toucher par le pharynx l'ouverture postérieure des fosses nasales.

SCHELLER et STENGER (1) ont rapporté un cas très curieux où la diphtérie du pharynx eut son origine dans le nez, sans déterminer de lésion nasale. Une dame qui devait être opérée pour

(1) *Berliner klin. Woch.*, 1905, n° 42.

hypertrophie d'un cornet fut trouvée porteuse de bacilles diphtériques (dans le mucus nasal); il n'y en avait pas sur les amygdales; elle avait séjourné trois semaines auparavant dans un village où régnait la diphtérie. Elle voulut être opérée, bien qu'on jugeât le moment inopportun. Deux jours après l'opération éclatait une forte diphtérie du pharynx, tandis qu'il n'y avait aucun symptôme du côté du nez et que la plaie opératoire guérissait sans aucune complication.

Le cas de notre chimpanzé est à rapprocher de ces observations sur l'homme; il y a eu dans le nez des bacilles en abondance, mais pas de lésion. Quant à la lésion pharyngée, elle s'étendait sur la face postérieure ou supérieure du voile du palais, débordait en avant, vers la bouche, sur les côtés de la luette et se prolongeait en arrière sur les sillons qui bordent la racine de la langue; elle engainait l'épiglotte et la glotte, pénétrait dans le larynx, occupait la plus grande partie de la muqueuse au-dessous des cordes vocales, atteignant l'orifice supérieur de la trachée, qu'elle ne dépassait pas. L'infection, comme il arrive chez les enfants dans certains cas graves, s'était même communiquée au poumon : dans le lobe supérieur du poumon droit, il y avait un bloc pulmonique, congestionné et dur, d'où l'on cultiva le bacille diphtérique (bacille long, comme le bac. du pharynx et le bac. inoculé) avec des streptocoques et un colibacille. Il n'y avait pas de lésions dans la trachée, ni dans les grosses bronches. Lesensemencements de foie et de rate furent stériles. Les capsules surrénales ne parurent pas augmentées de volume ni congestionnées.

L'incubation peut être très courte dans la diphtérie, d'après ce même cas grave où la fausse membrane apparut sur le bord de la luette le 3<sup>e</sup> jour après l'inoculation. Les lésions furent visibles vers le 14<sup>e</sup> jour chez un autre chimpanzé qui présenta, à la base d'un pilier et sur une amygdale, deux petites fausses membranes, consistantes, couenneuses, semblables à une espèce de végétation, formées de leucocytes et de fibrine, avec bacilles diphtériques. Dans les autres cas, les lésions bénignes apparurent du 2<sup>e</sup> au 7<sup>e</sup> jour.

A vrai dire, aucune amygdale n'a été le siège d'une fausse membrane de même texture que celles que l'on voit communément dans la diphtérie humaine. Les lésions observées sur des coupes biologiques, érosion de la muqueuse, détachement, à la

manière d'un feuillet, de la couche superficielle de l'épithélium, peuvent être pour une part attribuées aux traumatismes. Les points lésés présentent l'aspect d'un phénomène de Stöhr exagéré : effraction de l'épithélium et issue de leucocytes. Chez le chimpanzé qui a succombé avec les lésions graves, la fausse membrane était plus friable que résistante et élastique; l'aspect était celui d'un tissu nécrosé, putride. Il faut dire que cet animal, comme plusieurs de ses congénères, était atteint d'une affection fuso-spirillaire de la bouche, qui avait déterminé sur plusieurs points des ulcérations gangréneuses des gencives. Cette infection a pu modifier la nature de la fausse membrane diphtérique; il y a eu culture diphtérique plaquée sur une vaste angine de Vincent, plutôt que « couenne » à proprement parler. De plus, le chimpanzé n'a vécu que 3 jours à partir de l'apparition de la lésion diphtérique. Rien ne prouve que les chimpanzés ne puissent fabriquer des fausses membranes caractéristiques, — nous en avons cité une, à la vérité toute petite, — mais elles paraissent difficiles à provoquer. Les amygdales ne s'y prêtent pas particulièrement, elles sont bien un organe de défense. La fausse membrane elle-même est un processus de défense contre l'infection, sinon contre le poison sécrété par le bacille toxique. Sur aucune coupe, il n'a été vu de bacille à l'intérieur du tissu amygdalien; il n'a même pas été vu de streptocoques ou de staphylocoques; là où on en voit à une certaine distance de l'épithélium, la coupe passe par un plan tout à fait proche de la surface d'une crypte, et les microbes sont encore compris dans l'épaisseur de la muqueuse, qui, d'ailleurs, est déchiquetée et comme farcie de leucocytes.

Plusieurs chimpanzés ont été inoculés à deux et trois reprises. Une inoculation négative n'empêchait pas la réussite d'une inoculation ultérieure. La muqueuse n'était pas immunisée; elle ne paraît pas avoir été sensibilisée. Des lésions, très limitées, se sont produites lors de deux inoculations consécutives, à intervalle de 3 à 4 semaines. S'il peut y avoir immunité *locale*, les faits ne donnent pas de quoi l'apprécier. Un chimpanzé a été saigné 10 jours après une inoculation négative; le sérum n'avait pas de pouvoir antitoxique (même pas 1/10 d'unité par c. c.).

Dans plusieurs cas où il avait été inoculé des bacilles longs, on retrouvait, jusque vers le 20<sup>e</sup> jour, un bacille long. Mais, dans plusieurs cas, le bacille d'inoculation, moyen ou long, a disparu



très rapidement, et les cultures ne donnaient qu'un bacille très court, un peu renflé en son milieu, en forme de grain d'orge. Il est arrivé de cultiver en même temps un bacille long et ce bacille court. Jamais les bacilles courts ainsi retirés de la bouche des chimpanzés n'ont été pathogènes pour le cobaye (à la dose de 3 c. c. d'une culture en bouillon de 4 jours). Il s'agit d'un pseudo-diphtérique, rencontré aussi chez des chimpanzés non inoculés. Il n'y a pas de raison d'admettre que les bacilles diphtériques des fausses membranes se transformaient régulièrement dans la bouche du chimpanzé en bacilles courts ne donnant même pas d'œdème au cobaye. On sait que chez les enfants, lorsqu'il y a diphtérie sur deux points distincts, par exemple pharynx et conjonctive, le bacille peut être long dans la bouche et court sur la conjonctive, mais il s'agit ici et là de bacilles pathogènes. Il y a plutôt lieu de croire que l'inoculation était favorable à la pululation d'un pseudo-diphtérique préexistant.

Des bacilles longs, provenant d'une diphtérie mortelle d'un enfant et des lésions graves du chimpanzé qui a succombé (c'était la même origine), n'ont pas tué le cobaye après passage sur le chimpanzé. Il est possible que le séjour chez le chimpanzé atténue le bacille. Dans aucun cas, il n'a accru son pouvoir pathogène.

L'infection fuso-spirillaire, chez le chimpanzé le plus gravement atteint, ne peut être considérée comme la cause du succès de l'inoculation, puisque d'autres chimpanzés ont eu des lésions gingivales équivalentes et n'ont pas pris la diphtérie. L'un entre autres, âgé de quelques mois seulement, et qui n'a contracté aucune lésion diphtérique, avait sur le voile du palais, au-dessus de la luette, une ulcération typique d'un centimètre de diamètre, sans parler des ulcérations des gencives.

La salive des chimpanzés était franchement alcaline.

En somme, vis-à-vis du bacille diphtérique, le chimpanzé est non pas réfractaire, mais résistant, ce qui n'est pas la même chose. D'où lui vient cette résistance? Il est indiqué d'en chercher la cause dans la flore de la bouche.

## OBSERVATIONS

CHIMPANZÉ I. — Scarifications sur les amygdales. Badigeonné au pinceau avec 2 c.c. de suspension assez épaisse de bacilles d'une culture de 24 h. sur sérum. Ce bacille était celui que l'on emploie à l'Inst. Pasteur pour la production de la toxine diphtérique.

La température n'a pas dépassé 38°5. Ni exsudat, ni fausse membrane. Le 26<sup>e</sup> jour, isolé de la bouche un bacille diphtérique très court. L'animal meurt (d'une tout autre cause) le 40<sup>e</sup> jour. Le même bacille très court est isolé des cryptes des amygdales.

CHIMPANZÉ II. — Le 5-V, scarific. légères; friction avec une fausse membrane d'un enfant, contenant bac. de longueur moyenne. La température n'a pas dépassé 38°3. Rougeur des amygdales, indiquant un léger degré d'inflammation. Pas de fausse membrane. Les 2<sup>e</sup>, 7<sup>e</sup>, 12<sup>e</sup> jours, retiré de la bouche un bacille très court.

CHIMPANZÉ III. — Le 15-IV, inoculé par friction, sans scarification, avec une fausse membrane riche en bacilles *longs*. A la suite, pas d'élévation de température. Le 3<sup>e</sup> jour, isolé de la bouche des bacilles *courts*. A la même dose, le bacille de la fausse membrane tue, et le bacille retiré de la bouche ne tue pas le cobaye. Le 4<sup>e</sup> jour, retiré mêmes bacilles courts. Dans les cultures en série, sur sérum coagulé, le bac. long reste long; le court reste court. Isolé ce bac. court encore le 14<sup>e</sup> jour, associé à streptocoques.

Le même bacille court est isolé de la bouche de deux chimpanzés neufs cohabitant avec le chimpanzé en expérience.

*Deuxième inoculation* le 3-V, scarification; fausse membrane d'enfant. La température reste au-dessous de 38°; monte une seule fois, le 5<sup>e</sup> jour, à 38°2. Pas de fausse membrane; seulement, sur une amygdale, le 7<sup>e</sup> jour, quelques petites taches blanchâtres, qui,ensemencées, donnent un bacille très court; ce bacille est en abondance sur les frottis.

CHIMPANZÉ IV. — Grosses amygdales. *Première inoculation* le 5-IV, sur scarifications, avec fausse membrane riche en bacilles *longs* et moyens. Le 3<sup>e</sup> jour, on voit sur les amygdales de petites taches blanchâtres d'exsudat qui persistent pendant 4-5 jours. Pas de fièvre. On ne sent pas de ganglions. Les 3<sup>e</sup> et 8<sup>e</sup> jours, retiré de la bouche des bacilles *longs*.

Le chimpanzé est saigné le 16. Son sérum n'a pas de pouvoir antitoxique (même pas 1/10 d'unité par c. c.). Le 14<sup>e</sup> jour, au coin du pilier antérieur gauche et de la langue, on voit une sorte de petite végétation, consistante, presque couenneuse, formée de leucocytes et de fibrine, avec des bacilles dipht. (formes courtes et formes irrégulières, en massues, etc.). L'ensemencement donne des bacilles diphtériques. C'est une petite fausse membrane qui ne prend pas d'extension. Il y en a une autre sur le bord inférieur de l'amygdale droite. Les amygdales sont bouchées, comme granuleuses, superficiellement enflammées.

*Deuxième inoculation* le 5-V, avec une fausse membrane. L'amygdale droite a seule été de nouveau scarifiée. Le surlendemain, la température s'est élevée de 0°5 (37°5 à 38°2), et sur les amygdales, surtout sur la gau-

che, qui sont proéminentes, s'installent des taches blanchâtres d'exsudat blanc jaunâtre, donnant en culture des bacilles moyens et des bac. courts. L'aspect est celui d'une angine banale avec taches multiples, et non d'une fausse membrane continue. Le chimpanzé respire difficilement, avec une espèce de tirage. On lui injecte 40 c. c. de sérum antidiphtérique. Les exsudats qui duraient depuis 11 jours se détergent et disparaissent. Ensuite, le 20<sup>e</sup> jour, on isole encore de la bouche un bacille diphtérique qui tue un petit cobaye. Le chimpanzé meurt le 41<sup>e</sup> jour (pneumonie).

**CHIMPANZÉ V.** — *Première inoculation* le 3-IX, sans scarification, avec fausse membrane très riche en bacilles longs et en spirilles et bac. fusiformes. Le lendemain, sur le voile du palais, une petite tache blanche où abondent les polynucléaires et des spirilles. Cette tache disparaît au bout de 2 jours. Isolé bac. court.

*Deuxième inoculation*, après scarification assez brutale, le 7-IX. Les jours suivants, les amygdales sont rouges, la muqueuse est comme tendue et granuleuse. On y voit une tache d'exsudat qui a disparu dès le lendemain. Isolé bac. longs les 6<sup>e</sup> et 8<sup>e</sup> jours.

*Troisième inoculation* le 15-IX. Lésé la muqueuse de l'amygdale droite en la pinçant fortement; touché l'amygdale gauche avec une solution forte d'acide phénique. Il n'apparaît que quelques légères taches d'exsudat.

**CHIMPANZÉ VI.** — *Première inoculation* le 14-IX, avec fausse membrane sans scarification. Aucun résultat. L'animal avait des bac. courts dans la bouche avant l'inoculation.

*Deuxième inoculation* le 25, après scarification, avec fausse membrane à bac. longs, provenant d'une diphtérie maligne. La même fausse membrane a servi pour les chimpanzés 6, 7, 8. Pas de résultat.

*Troisième inoculation* le 4-XI, dans les fosses nasales, sans lésion, avec tampon d'ouate imbibé de culture pure du bacille cultivé de la même fausse membrane. Pendant 12 et 15 jours, on retrouve dans la bouche et dans le nez des bac. longs et des bac. courts.

Le chimpanzé meurt de pneumonie le 20-XI. On cultive un bac. diphtérique long à partir des fosses nasales, des amygdales et du bloc de pneumonie. Le bac. ne tue pas des cobayes de 200 gr., même à la dose de 4 c. c. d'une culture de 5 jours en bouillon. Il n'y a pas eu de fièvre, pas de fausse membrane, ni dans le nez, ni dans l'arrière-bouche.

**CHIMPANZÉ VII.** de moins d'un an.

Inoculé le 25-IX avec la même fausse membrane que le précédent, après scarification. Pas de résultat.

*Deuxième inoculation* le 7-X, en frottant les fosses nasales une f. membrane d'un enfant. Dans la suite, on retire de la bouche et de la face postérieure du voile du palais des bac. diphtériques, longs et courts. L'animal a une infection putride et gangréneuse des gencives, et une angine ulcéreuse au-dessus de la lèvre. Meurt le 21-X. Pas de lésions de diphtérie.

**CHIMPANZÉ VIII.** — Inoculé le 30-IX, sans scarification, au pinceau, avec les microbes prélevés en masse sur les lésions diphtériques du ch. IX, aussitôt après la mort de ce dernier. Au bout de 6 jours, exsudat grisâtre



sur l'amygdale gauche, qui disparaît bientôt. Bacilles dipht. dans la bouche.

*Deuxième inoculation* le 25-X, en passant dans les fosses nasales une fausse membrane (la même que dans le cas précédent). Pas de fièvre. Il survient des taches blanchâtres sur les amygdales, pas de fausse membrane. Cultivé après 5 et 14 jours un bac. dipht. long, de la bouche et du nez. L'animal a de grosses lésions gangréneuses des gencives. Il meurt le 9-XI. Bacilles dans les fosses nasales, le pharynx, les cryptes amygdaliennes; aucune lésion diphtérique.

CHIMPANZÉ IX. — Inoculé le 25-IX avec la même fausse membrane que les chimpanzés VI et VII, en passant le lambeau de fausse membrane dans la fosse nasale. L'animal est à ce moment assez triste et mal portant; il mange peu.

Le 3<sup>e</sup> jour après l'inoculation, on voit un enduit grisâtre sur les bords de la luette et du voile du palais; cet enduit paraît déborder d'arrière en avant. On y trouve en abondance des bacilles longs; on en trouve dans les narines, dans le mucus nasal, dans la bouche. Sur les cultures, le mucus nasal donne, en outre, grande abondance de bacilles courts.

Le chimpanzé est moribond le 30-IX (6<sup>e</sup> jour); on l'achève au moyen de chloroforme. A l'autopsie :

Dans le pharynx, vaste fausse membrane sur la face postérieure ou supérieure du voile, débordant en avant, dans la bouche, sur les côtés de la luette; elle se prolonge en arrière sur les sillons de chaque côté de la racine de la langue et engaine la glotte. Elle se prolonge dans le larynx, sur les cordes vocales et la plus grande partie de la muqueuse, jusqu'à l'orifice supérieur de la trachée.

Ce n'est pas une fausse membrane résistante, élastique, couenneuse. Il s'agit plutôt d'un amas de bacilles longs, mêlés à de la fibrine friable; l'aspect est celui d'un tissu nécrosé et putride; on y trouve une masse de spirilles et de bacilles fusiformes, dont la présence est liée aux lésions gangréneuses des gencives.

Bloc pneumonique, congestionné et dur, dans le lobe supérieur du poumon droit.

Les capsules surrénales ne sont pas augmentées de volume, ni congestionnées.

On cultive, à partir des lésions pharyngées, des bacilles longs et des bacilles courts; à partir du poumon, des bacilles longs, avec des streptocoques et un colibacille; ensemencements du foie et de la rate, stériles.

---

# QUELQUES RECHERCHES

## sur le cancer spontané et le cancer expérimental des souris.

PAR LE DOCTEUR L. NÈGRE

(*Travail du Laboratoire du Dr BORREL*)

---

Nous désirons donner dans ce travail les résultats des quelques recherches que nous avons poursuivies, sur le cancer des souris, dans le laboratoire de M. le Dr Borrel. Nous tenons à le remercier ici pour tous les moyens qu'il a mis à notre disposition. Cette étude a porté sur le cancer spontané et sur le cancer expérimental.

### I

#### RECHERCHES SUR LE CANCER SPONTANÉ

L'élevage de souris de M. Borrel, grâce à son installation et à sa nombreuse population, nous a permis de diriger nos recherches sur les conditions qui favorisent l'apparition du cancer spontané.

Nous avons eu, par année, une moyenne de 2,000 à 2,500 souris en observation. Ces souris, placées dans des cages ou dans des bœaux par 8 ou 10 femelles pour 1 mâle, ont présenté un certain nombre de tumeurs spontanées. Voyons si nous pouvons retirer quelque renseignement de leur étude au point de vue étiologique.

D'octobre 1907 à octobre 1908, nous avons eu dans l'élevage 17 cas de cancer sur 2,500 souris, soit 0,6 0/0.

D'octobre 1908 à octobre 1909, nous avons eu 36 cas sur 1,800 souris, soit 2 0/0.

Dans l'espace de 2 ans, les cas de cancer ont donc augmenté dans l'élevage dans une proportion notable.

Ce fait seul a sa valeur.

Si les cas de cancer augmentent dans un élevage, à mesure qu'on y entretient des souris cancéreuses, on pourra en conclure que la transmission de la maladie se fait de souris à souris, ou qu'elle est due en tout cas à une cause extérieure qui étend son influence dans l'élevage.

Nous avons observé beaucoup plus de cas isolés que de cas survenant à la fois ou les uns après les autres, dans un même bocal ou dans une même cage. Cela tient probablement aux conditions multiples qui doivent être réalisées pour qu'un cancer puisse se produire.

Il faut donc attacher une grande importance à la statistique par année d'un élevage cancéreux. Si, les conditions restant les mêmes, la proportion des cas de cancer augmente progressivement, ce sera un argument en faveur de la théorie parasitaire.

Nous ne pouvons encore rien conclure d'une observation qui ne porte que sur 2 années, mais nous devons cependant faire remarquer combien la proportion des cas de cancer de l'élevage de Borrel est plus élevée que celle donnée par Bashford. En 4 ans, sur 100,000 souris examinées, il a trouvé 28 carcinomes de la mamelle, soit 1 cas de cancer par 3,500 souris, ce qui fait une proportion de 0,03 pour 1,000.

Dans l'élevage de l'Institut Pasteur, nous avons eu en 1907-1908 une proportion de cas d'adénocarcinome de 0,6 0/0 et en 1908-1909 de 2 0/0, ce qui fait pour ces 2 années une proportion de plus de 1 0/0, c'est-à-dire de plus de 10 0/00.

L'adénocarcinome siégeait dans une proportion de 54 0/0 à l'aîne, de 15 0/0 à l'aisselle, de 9 0/0 à la nuque, de 7 0/0 à la vulve, de 11 0/0 au cou, de 4 0/0 à divers autres endroits.

Ainsi, les deux régions privilégiées au point de vue du cancer sont l'aîne et l'aisselle. Il est intéressant de noter que ce sont les parties du corps où se rassemblent de préférence les ecto-parasites.

Comme le montre le tableau ci-après, donnant la répartition par mois des tumeurs spontanées, apparues dans l'élevage et apportées au laboratoire, les cas d'adénocarcinome paraissent plus fréquents au printemps et en automne, dans les deux saisons où la pullulation des parasites atteint son apogée.

Au point de vue de la répartition des cas de cancer dans les cages, nous avons eu, sur 53 cas, 38 cas isolés et les autres 15 cas réunis par 2, par 3 ou plus.



TUMEURS SPONTANÉES DE LA SOURIS, ADÉNOCARCINOMES

	1907-1908		1908-1909		TOTAL par mois.
	Ayant pris naissance dans l'élevage.	Apportées au laboratoire.	Ayant pris naissance dans l'élevage.	Apportées au laboratoire.	
Octobre .....	2	0	6	3	11
Novembre .....	1	0	2	2	5
Décembre .....	0	0	0	2	2
Janvier .....	0	0	5	0	5
Février .....	0	1	0	0	1
Mars .....	2	1	4	3	10
Avril .....	2	2	2	1	7
Mai .....	3	3	6	0	12
Juin .....	0	3	5	0	8
Juillet .....	3	1	2	0	6
Août .....	3	0	1	0	4
Septembre .....	1	0	3	0	4
	17		36		

Voici l'histoire des cas qui nous paraissent les plus intéressants, au point de vue de la contagiosité :

1<sup>o</sup> Une tumeur spontanée de l'aine apparaît chez une femelle d'un bocal de 11 souris dont 1 mâle. Les souris sont vieilles. La souris à tumeur meurt le 23 mars 1909. La tumeur est prélevée pour l'examen histologique et la peau de la souris est laissée dans le bocal. L'examen montre que la tumeur est un adénocarcinome.

Quelques jours après, le mâle présente une tumeur du cou. Il est sacrifié. Adénocarcinome.

Le 1<sup>er</sup> avril 1909, on constate une nouvelle tumeur chez une femelle, à l'aisselle gauche. Elle est opérée et remplacée dans le bocal. La tumeur est un kyste.

Le 27 mai 1909, on constate chez une femelle une nouvelle tumeur spontanée à l'aine droite. Elle est opérée et remplacée dans le bocal. Adénocarcinome.

Total : 3 cancers et 1 kyste sur 11 souris en 3 mois.

2° Trois vieilles cages en bois placées les unes sur les autres reçoivent le 2 octobre 1908, la supérieure (cage n° I) : 26 souris d'origine Pionier dont une a une tumeur de l'aine; la cage n° II reçoit 15 vieilles souris; l'inférieure (cage n° III) reçoit 12 souris.

Le 17 octobre, 2 nouvelles souris ont une tumeur : une dans la cage n° I, l'autre dans la cage n° II.

Le 25 octobre, la souris à tumeur spontanée primitive meurt. On replace sa peau dans la cage après l'autopsie.

Le 13 novembre, une nouvelle tumeur (adénocarcinome de l'aisselle gauche) chez une femelle de la cage n° I. Le même jour, on constate une tumeur de la nuque et une tumeur double de la nuque et de l'aine chez deux femelles de la cage n° III.

Le 16 mars 1909, on trouve 2 cas de lymphosarcome dans la cage n° I et une tumeur de la nuque (kyste) chez une femelle de la cage III.

Au total : 7 cas de cancer dont 5 adénocarcinomes et 2 lymphosarcomes en 5 mois.

Il faut remarquer que tous ces cas, d'apparence contagieuse, se sont produits dans des cages ou dans des bocaux où on avait laissé les peaux des souris cancéreuses avec tous les ectoparasites qu'elles portaient, ou dans de vieilles cages en bois fissurées, favorables à la pullulation de ces parasites. Ces constatations viendraient par conséquent à l'appui des idées de Borrel sur le rôle des acariens dans la naissance du cancer.

Nous avons, d'autre part, rencontré un insuccès complet dans tous les essais d'infection que nous avons tentés par l'injection de tissu cancéreux et d'excréments de souris cancéreuses et de divers animaux.

Ces quelques résultats seraient donc en faveur de l'hypothèse de Borrel sur le rôle probable des ecto-parasites dans la propagation des tumeurs de la souris.

1° Échec dans les essais d'infection par le tube digestif;

2° Prédominance des cas d'adénocarcinome à l'aine et à l'aisselle (54 0/0 et 15 0/0) dans les deux régions où les ectoparasites sont en plus grande quantité;

3° Prédominance des cas de cancer à l'automne et au printemps, aux deux époques où la pullulation des parasites atteint son apogée.

INFLUENCE PRÉDISPOSANTE DE LA SPIRILLOSE DES SOURIS SUR  
L'APPARITION DU CANCER.

Nous avons pu constater aussi l'influence favorisante que l'infection à spirilles exerce sur le genèse du cancer.

Ce spirille, trouvé pour la première fois par Borrel dans les

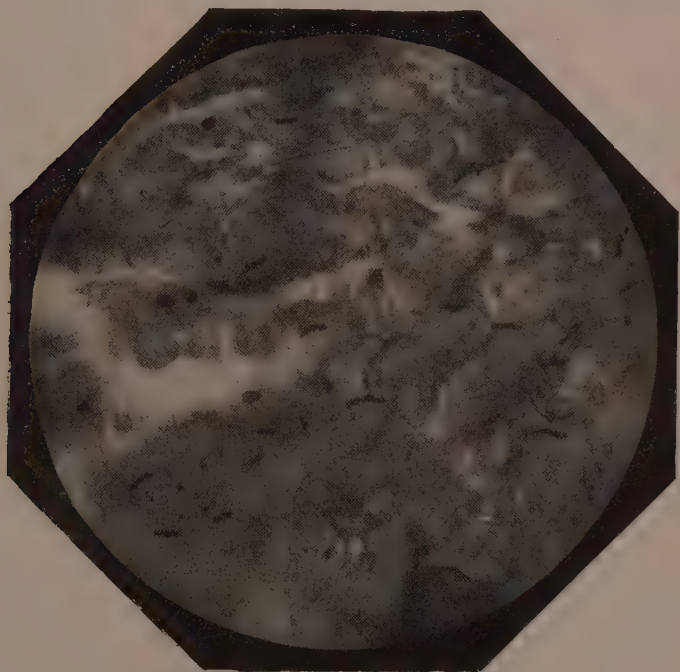


Fig. 4. — Spirilles de la souris dans le stroma de la tumeur B.  
Imprégnation au nitrate d'argent.

tumeurs non ulcérées de la souris, et retrouvé par Wenyon chez des souris non cancéreuses, est fréquent chez les souris parisiennes. Nous l'avons constaté chez des souris à tumeur spontanée, dans la proportion de 20 0/0.

Dans les 5 tumeurs que nous transplantons, toutes adénocarcinomes de la souris d'origine parisienne, nous en avons deux, la tumeur B et la tumeur dite Van Eckhoven, qui à l'origine étaient infectées par des spirilles. Dans les passages successifs de ces deux tumeurs, les spirilles ont continué à être inoculés avec le tissu cancéreux. L'inoculation réussit à coup sûr par

l'introduction d'un petit fragment de tissu cancéreux sous la peau. Même si la tumeur ne prend pas, la souris présente des spirilles dans le sang. La virulence de ces parasites ne paraît pas augmentée par ces passages répétés. Ils apparaissent toujours dans le sang 5 à 6 jours après l'inoculation, comme l'avait remarqué Wenyon. L'infection atteint son apogée dans les premiers jours, 10 à 15 jours après l'inoculation, mais même à ce moment les spirilles ne dépassent jamais 5 à 6 par champ. Nous avons constaté qu'ils avaient toujours disparu 3 mois après l'inoculation. Comme les passages des tumeurs se font à peu près tous les mois, les spirilles sont donc toujours inoculés avec la tumeur.

Nous avons vu aussi que les souris qui avaient été infectées étaient immunisées contre une deuxième inoculation de spirilles. Nous n'avons pas réussi à réaliser la transmission de l'infection par les pucès, ni par les punaises.

Gaylord, ayant remarqué que les spirilles sont plus nombreux dans les tumeurs les plus virulentes, nous avons cherché si on pouvait augmenter la virulence d'une tumeur, passant avec un pourcentage faible, en l'inoculant à des souris spirillées. Nous avons constaté qu'il n'y avait aucune différence, au point de vue des succès, entre les souris normales et les souris spirillées.

Mais, s'il n'y a pas de relation entre les spirilles et la virulence d'une tumeur, n'y en a-t-il pas au point de vue étiologique entre les spirilles et le cancer? La présence si fréquente des spirilles chez les souris à tumeur spontanée ne peut-elle pas faire penser à une influence prédisposante de l'infection à spirilles sur le cancer? C'est ce que nous avons recherché en inoculant un très grand nombre de souris avec des spirilles et en les conservant dans les mêmes conditions que des souris témoins non inoculées pour voir si les souris spirillées ne deviendraient pas cancéreuses dans une plus forte proportion.

#### SOURIS INOCULÉES AVEC LES SPIRILLES

96 SOURIS

*inoculées avec les spirilles le 18 juin 1908.*

1 tumeur de l'aine.....	le 17 oct. 1908.	1 tum. de l'aine, le 19 janv. 1909.
1 tumeur du cou.....	le 2 nov. 1908.	
1 tumeur de la vulve.....	le 6 janv. 1909.	
1 tumeur de l'aine.....	le 19 janv. 1909.	
1 tumeur de l'aine.....	le 19 janv. 1909.	

Total des tumeurs spontanées : 5.

#### SOURIS TÉMOINS

288 SOURIS

Total des tumeurs spontanées : 1.



48 SOURIS INOCULEES

avec les spirilles le 15 février 1909.

1 tumeur de la jambe, le 25 mars 1909.  
1 tumeur du cou..... le 15 mai 1909.

Total des tumeurs spontanées : 2.

104 SOURIS

1 tumeur de la vulve, le 5 mai 1909.

Total des tumeurs spontanées : 1.

90 SOURIS INOCULEES

avec les spirilles le 27 février 1909.

1 tumeur de l'aîne... le 25 mars 1909.

1 tumeur de l'aîne... le 23 mai 1909.

1 tumeur de l'aîne... le 13 mai 1909.

Total des tumeurs spontanées : 3.

Total général des tumeurs spontanées,  
des souris inoculées avec des spi-  
rilles : 10.

Total des souris à spirilles : 234.

MEMES TÉMOINS

Total général des tumeurs : 2.

Total des souris témoins : 392.

Proportion des cancers : 4,2%.

Proportion des cancers : 0,5%.

Il résulte de ces inoculations que l'infection à spirilles des souris paraît avoir une action favorisante sur le développement du cancer. En pathologie humaine, les relations de la syphilis et du cancer sont connues depuis longtemps. Chez la souris la spirillose serait donc aux tumeurs spontanées ce que la syphilis est au cancer chez l'homme. Pour le moment, il n'y a pas lieu d'attribuer un rôle plus important aux spirilles dans le cancer de la souris, étant donné qu'on ne les rencontre pas dans toutes les tumeurs spontanées.

Il faut se rendre compte cependant d'après nos expériences que, si on ne rencontre pas des spirilles chez toutes les souris cancéreuses, ils ont pu exister tout de même chez certaines et favoriser ainsi l'apparition du cancer. Parmi les souris que nous avons inoculées avec des spirilles, 4 en avaient encore au moment de l'apparition de la tumeur spontanée et 6 n'en avaient plus. Les spirilles disparaissent environ 3 mois après l'inoculation. D'après le tableau précédent, on peut voir que 4 tumeurs seulement ont apparu dans les trois premiers mois après l'inoculation. Pour les six tumeurs qui ont pris naissance plus tard, on n'aurait pas pu établir de relation entre elles et les spirilles si on n'avait pas su que ces souris avaient été spirillées antérieurement.

Nous pensons donc que la spirillose peut prédisposer les souris au cancer.

## II

QUELQUES RECHERCHES SUR LE CANCER EXPÉRIMENTAL. —  
INFLUENCE DES RÉGIMES ALIMENTAIRES SALINS SUR LE DÉVELOPPEMENT DES TUMEURS.

La virulence d'une tumeur, autrement dit le succès de la transplantation dans la greffe cancéreuse dépend de deux facteurs : 1° la nature de la tumeur; 2° l'organisme de l'animal inoculé. Vis-à-vis d'une même tumeur, des souris d'origine différente peuvent se comporter de façon différente.

La tumeur Jensen a été étudiée à ce point de vue sur des souris de divers pays. Alors que Jensen avait obtenu 70 à 80 0/0 de succès sur les souris danoises, Michaëlis a constaté que les souris de Berlin étaient réfractaires à cette tumeur et Borrel et Haaland n'ont eu qu'un pourcentage de 30 à 40 0/0 avec les souris de Paris. Haaland a vu aussi que les souris de Berlin, très sensibles au sarcome d'Ehrlich, sont devenues après plusieurs mois de séjour en Norvège relativement réfractaires vis-à-vis de cette tumeur.

Comme l'a écrit Borrel, toutes les expériences concordent pour montrer que des modifications très délicates dans l'organisme de la souris, peut-être dues au régime alimentaire, solide ou liquide, peuvent avoir une très grande influence sur le sort de la greffe cancéreuse.

Nous nous sommes donc proposés de rechercher le mécanisme de ces variations en voyant si des souris cancéreuses, soumises à un régime alimentaire déterminé, ne donneraient pas des tumeurs plus difficilement inoculables à des souris soumises à un régime différent et plus facilement inoculables à des souris soumises au même régime.

Nous avons varié l'alimentation en donnant tous les deux jours environ aux divers groupes de souris, de même âge et de même origine, du pain trempé dans les solutions à 5 0/00 des différents sels. Pour le chlorure de baryum seulement la dose a été réduite à 2,5 0/00 à cause de sa toxicité.

I. — *Inoculation de la tumeur B aux divers groupes de souris soumises aux régimes salins pendant 4 mois avant l'inoculation.*

Résultats au bout d'un mois.

$\frac{1}{2}$	souris	soumises	au	régime	KCl	1	tumeur	sur	$\frac{1}{2}$
$\frac{1}{2}$	—	—	—	—	NaCl	2	—	—	$\frac{1}{2}$
$\frac{1}{2}$	—	—	—	—	SrCl <sup>2</sup>	1	—	—	$\frac{1}{2}$
$\frac{1}{2}$	—	—	—	—	CaCl <sup>2</sup>	1	—	—	$\frac{1}{2}$
$\frac{1}{2}$	—	—	—	—	MnCl <sup>2</sup>	2	—	—	$\frac{1}{2}$
$\frac{1}{2}$	—	normales	—	—		3	—	—	$\frac{1}{2}$

D'après les expériences précédentes, on voit que la tumeur B ne passe plus qu'avec un pourcentage inférieur au pourcentage habituel, quand on l'inocule, non plus à des souris normales, mais à des souris soumises à un régime salin déterminé depuis quelques mois. L'ingestion suivie d'un chlorure suffit à provoquer dans l'organisme de la souris des modifications biochimiques dont nous ignorons la nature, mais qui ont un résultat certain : cette souris devient moins sensible à la greffe d'une tumeur qui passait sur des souris de même âge et de même origine et qui recevaient la même nourriture, moins le sel en question.

Ainsi peut s'expliquer que la tumeur Jensen, qui passait sur les souris danoises avec un pourcentage de 70 à 80 0/0, ne passe plus sur les souris de Berlin ou de Paris qu'avec un pourcentage beaucoup plus faible. Des modifications très minimes dans la composition des matières alimentaires, dans les sels dissous dans l'eau de boisson suffisent, d'après nos expériences, à expliquer ces variations.

II. — *Acclimatement de la tumeur B à un sel déterminé.*

Puisqu'une tumeur, transplantée sur les souris d'un pays différent de son pays d'origine, arrive à s'habituer à ces nouvelles souris et que peu à peu les succès de transplantation augmentent, nous avons essayé de voir :

A. Si de même la tumeur pouvait s'acclimater à un sel déterminé;

B. Si une tumeur, une fois acclimatée à un sel déterminé, se laisserait plus difficilement transplanter sur des souris alimentées avec des sels différents.

A. Pour acclimater la tumeur B à un sel, nous l'avons d'abord inoculée à des souris qui ont été alimentées avec ce sel à partir du moment de l'inoculation. Au second passage les souris inocuées recevaient le sel dans leur nourriture depuis plus longtemps,

## II. — PREMIÈRE SÉRIE D'EXPÉRIENCES.

Inoculation avec tumeur B passant sur souris KCl depuis le 15 décembre 1907, le 4 avril 1908.				Inoculation avec tumeur B passant sur souris NaCl depuis le 15 décembre 1907, le 6 avril 1908.				Inoculation avec tumeur B passant sur souris MnCl <sup>2</sup> depuis le 15 décembre 1907, le 9 mai 1908			
4 souris KCl depuis le 5 déc. 07, 2 tum. sur 4	4	—	—	4 souris NaCl depuis le 5 déc. 07, 2 tum. sur 4	4	—	—	4 souris MnCl <sup>2</sup> depuis le 1 <sup>er</sup> mars 08, 3 tum. sur 4	4	—	—
4 — NaCl — — — 1 — — — 4	4	—	—	4 — KCl — — — 0 — — — 4	4	—	—	4 — KCl — — — 0 — — — 4	4	—	—
4 — SrCl <sup>2</sup> — — — 0 — — — 4	4	—	—	4 — SrCl <sup>2</sup> — — — 2 — — — 4	4	—	—	4 — SrCl <sup>2</sup> — — — 1 — — — 4	4	—	—
4 — MnCl <sup>2</sup> — — — 2 — — — 4	4	—	—	4 — MnCl <sup>2</sup> — — — 0 — — — 4	4	—	—	4 — NaCl — — — 1 — — — 4	4	—	—
4 — normales — — — 2 — — — 4	4	—	—	4 — normales — — — 0 — — — 4	4	—	—	4 — normales — — — 1 — — — 4	4	—	—
Inoculation avec tumeur B passant sur souris KCl depuis le 15 décembre 1907, le 22 juin 1908.				Inoculation avec tumeur B passant sur souris NaCl depuis le 15 décembre 1907, le 4 juin 1908.				Inoculation avec tumeur B passant sur souris MnCl <sup>2</sup> depuis le 15 décembre 1907, le 5 juin 1908.			
4 souris KCl depuis le 1 <sup>er</sup> avril 08, 2 tum. sur 4	4	—	—	4 souris NaCl depuis 1 <sup>er</sup> avril 08, 3 tum. sur 4	4	—	—	4 souris MnCl <sup>2</sup> depuis le 1 <sup>er</sup> avril 08, 3 tum. sur 4	4	—	—
4 — NaCl — — — 0 — — — 4	4	—	—	4 — KCl — — — 2 — — — 4	4	—	—	4 — KCl — — — 0 — — — 4	4	—	—
4 — SrCl <sup>2</sup> — — — 0 — — — 4	4	—	—	4 — SrCl <sup>2</sup> — — — 1 — — — 4	4	—	—	4 — SrCl <sup>2</sup> — — — 1 — — — 4	4	—	—
4 — CaCl <sup>2</sup> — — — 0 — — — 4	4	—	—	4 — CaCl <sup>2</sup> — — — 1 — — — 4	4	—	—	4 — CaCl <sup>2</sup> — — — 1 — — — 4	4	—	—
4 — MnCl <sup>2</sup> — — — 0 — — — 4	4	—	—	4 — MnCl <sup>2</sup> — — — 2 — — — 4	4	—	—	4 — NaCl — — — 0 — — — 4	4	—	—
4 — normales — — — 0 — — — 4	4	—	—	4 — normales — — — 3 — — — 4	4	—	—	4 — normales — — — 2 — — — 4	4	—	—



et ainsi de suite jusqu'à une alimentation qui durait depuis plus de 3 mois.

Nous avons ainsi créé des races différentes de tumeurs : tumeur K, tumeur Na, etc.

Nous avons vu que certains de ces chlorures avaient une influence empêchante sur le développement des tumeurs beaucoup plus marquée que d'autres. Parmi ceux dont nous nous sommes servi, ce sont le chlorure de sodium et surtout le chlorure de baryum. D'après les tableaux ci-joints, on peut voir que les premiers passages sont très difficiles sur les souris alimentées avec ces sels. Sur 5 souris inoculées, une seule tumeur se développe. Chez les autres souris, tout comme dans les expériences d'Haaland, un petit nodule apparaît sous la peau quelques jours après l'inoculation. Il augmente, puis subitement sa croissance s'arrête et il se résorbe. Même la tumeur qui se développe croît lentement et n'atteint pas un volume considérable. Cependant la tumeur B est arrivée à s'acclimater à ces sels, puisque, d'après les tableaux, on peut voir qu'avec le nombre des passages, le pourcentage des succès et les dimensions des tumeurs augmentent.

La tumeur B peut donc s'adapter peu à peu aux divers régimes salins qui, au début des passages, gênent son développement et même à ceux qui ont l'influence empêchante la plus marquée.

B. Est-ce que les tumeurs qui ont été acclimatées à un sel déterminé se laissent moins bien transplanter sur des souris alimentées avec un sel différent?

Comme le montrent les tableaux, ces expériences ont donné des résultats moins concluants. D'une façon générale, on peut dire que la tumeur B, acclimatée à un sel déterminé, passe avec un pourcentage moindre sur des souris dont l'organisme est saturé par un sel différent, quel que soit ce sel.

### III. — DEUXIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES.

Inoculation avec tumeur B, passant sur souris BaCl <sup>2</sup> , depuis le 29 octobre 08, le 14 décembre 08.					Inoculation avec tumeur B passant sur souris NaCl depuis le 29 octobre 08, le 12 décembre 08.				
5	souris	BaCl <sup>2</sup>	depuis le 5 octob. 08,	3 tum. sur 5	4	souris	NaCl	depuis le 5 octob. 08,	1 tum. sur 4
5	—	SrCl <sup>2</sup>	— — — —	— 1 — — 5	4	—	SrCl <sup>2</sup>	— — — —	— 1 — — 4
5	—	NaCl	— — — —	— 1 — — 5	4	—	BaCl <sup>2</sup>	— — — —	— 1 — — 4
5	—	normales	— — — —	— 3 — — 5	4	—	témoins	— — — —	— 3 — — 4

Inoculation avec tumeur B passant sur souris  
BaCl<sup>2</sup> depuis le 29 octobre 1908, le 23 février 1909.

4	souris	BaCl <sup>2</sup>	depuis le 13 déc. 08,	3	tum.	sur 4
4	—	SrCl <sup>2</sup>	—	—	2	— 4
4	—	NaCl	—	—	2	— 4
4	—	normales	—	—	1	— 4

Inoculation avec tumeur B passant sur souris  
BaCl<sup>2</sup> depuis le 29 octobre 1908, le 1<sup>er</sup> avril 1909.

5	souris	BaCl <sup>2</sup>	depuis le 10 janv. 09,	2	tum.	sur 5
5	—	SrCl <sup>2</sup>	—	—	1	— 5
5	—	NaCl	—	—	0	— 5
5	—	normales	—	—	2	— 5

Inoculation avec tumeur B passant sur souris  
BaCl<sup>2</sup> depuis le 29 octobre 1908, le 7 mai 1909.

5	souris	BaCl <sup>2</sup>	depuis le 12 fév. 09,	4	tum.	sur 5
5	—	SrCl <sup>2</sup>	—	—	1	— 5
5	—	NaCl	—	—	3	— 5
5	—	normales	—	—	0	— 5

Inoculation avec tumeur B passant sur souris  
NaCl depuis le 29 octobre 1907, le 24 février 1909.

4	souris	NaCl	depuis le 13 déc. 08,	3	tum.	sur 4
4	—	SrCl <sup>2</sup>	—	—	0	— 4
4	—	BaCl <sup>2</sup>	—	—	1	— 4
4	—	normales	—	—	2	— 4

Inoculation avec tumeur B passant sur souris  
NaCl depuis le 29 octobre 1908, le 2 avril 1909.

5	souris	NaCl	depuis le 10 janv. 09,	2	tum.	sur 5
5	—	SrCl	—	—	2	— 5
5	—	BaCl <sup>2</sup>	—	—	1	— 5
5	—	normales	—	—	2	— 5

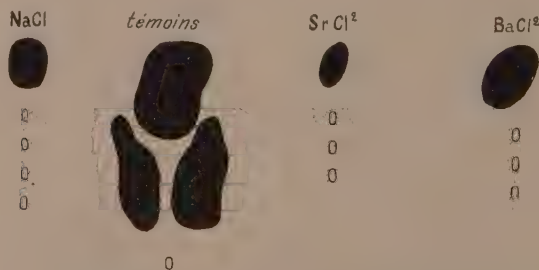
Inoculation avec tumeur B passant sur souris  
NaCl depuis le 29 octobre 1908, le 7 mai 1909.

5	souris	NaCl	depuis le 12 fév. 09,	3	tum.	sur 5
5	—	SrCl <sup>2</sup>	—	—	2	— 5
5	—	BaCl	—	—	2	— 5
5	—	normales	—	—	0	— 5

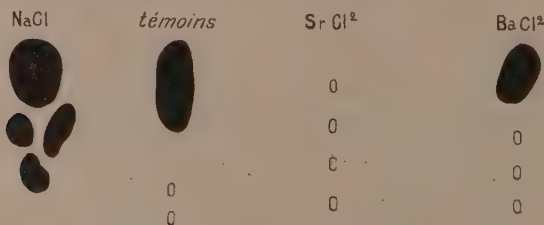
Influence du chlorure de sodium sur le développement des tumeurs. — Adaptation de la tumeur à ce sel après passages successifs. — Inoculation de cette tumeur à des souris alimentées avec des sels différents.

Inoculation avec la tumeur B passant sur souris NaCl, depuis le 25 octobre.

Le 12 décembre. — Résultats au bout de 1 mois.

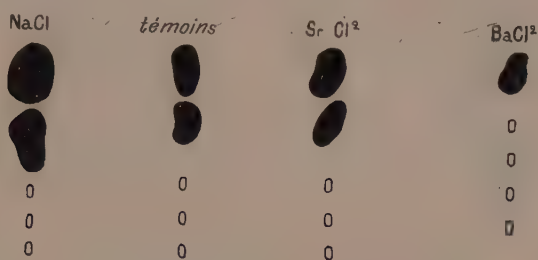


Inoculation avec la tumeur B sur souris NaCl, depuis le 29 octobre.  
Le 24 février. — Résultats au bout de 1 mois.



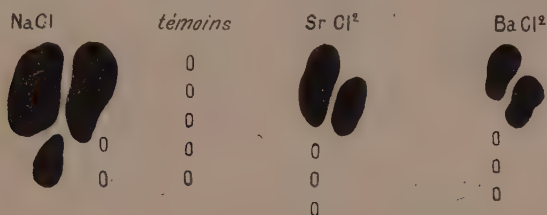
25 Inoculation avec la tumeur B passant sur souris NaCl, depuis le octobre.

Le 2 avril. — Résultats au bout de 1 mois.



Inoculation avec la tumeur B, passant sur souris NaCl, depuis le 25 octobre.

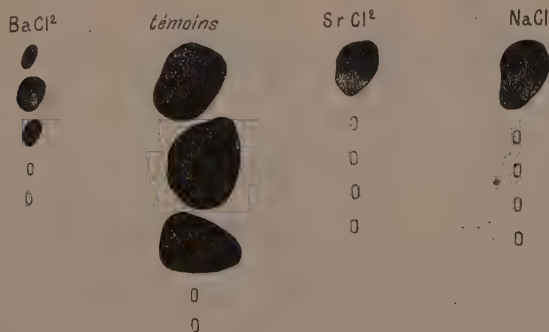
Le 7 mai. — Résultats au bout de 1 mois.



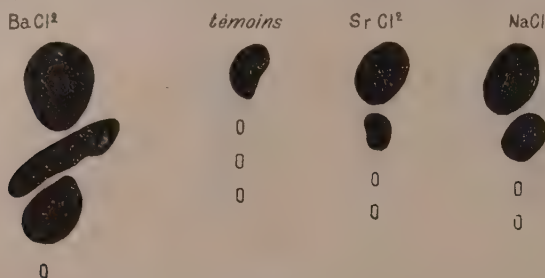
Influence du chlorure de baryum sur le développement des tumeurs. — Adaptation de la tumeur à ce sel après passages successifs. — Inoculation de cette tumeur à des souris alimentées avec des sels différents.

Inoculation avec tumeur B sur souris BaCl<sup>2</sup> depuis le 29 octobre.

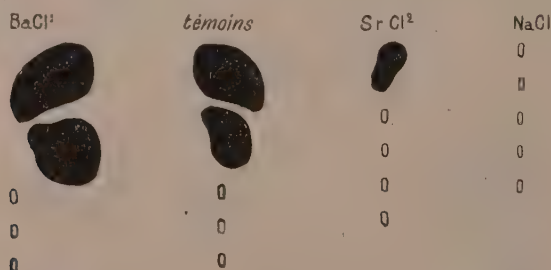
Le 14 décembre. — Résultats au bout de 1 mois.



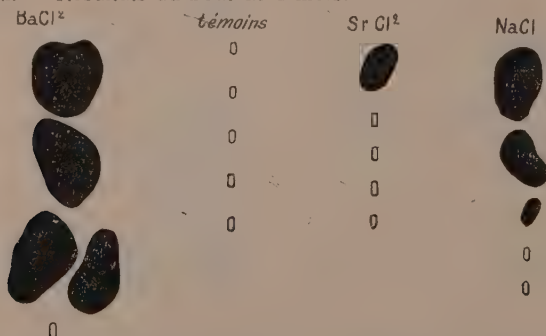
Inoculation avec tumeur B, passant sur souris  $\text{BaCl}_2$ , depuis le 29 octobre.  
Le 23 février. — Résultats au bout de 1 mois.



Inoculation avec tumeur B, passant sur souris  $\text{BaCl}_2$ , depuis le 29 octobre.  
Le 1<sup>er</sup> avril. — Résultats au bout de 1 mois.



Inoculation avec tumeur B, passant sur souris  $\text{BaCl}_2$ , depuis le 29 octobre.  
Le 7 mai. — Résultats au bout de 1 mois.



On peut voir dans les tableaux les résultats des inoculations des tumeurs acclimatées au chlorure de sodium et au chlorure de baryum, sur des souris alimentées avec d'autres sels. Dans ces expériences, les conclusions sont nettes : les tumeurs adaptées à un sel déterminé se laissent moins bien transplanter sur des souris alimentées avec un sel différent. Mais nous avons constaté, dans nos résultats, des variations qui peuvent s'expliquer, soit par le fait que dans nos expériences les souris n'avaient peut-être pas toutes ingéré en même quantité les solutions



salines qu'on leur donnait, soit par le fait que l'adaptation des tumeurs à leurs sels respectifs n'était pas suffisante.

Nos constatations suffisent en tout cas à expliquer les difficultés que rencontrent les expérimentateurs, au début des inoculations d'une tumeur aux souris d'un pays différent, et la possibilité pour eux d'adapter peu à peu cette tumeur à ces souris. Les variations du régime alimentaire, par des teneurs différentes en sels, doivent en être la cause.

# ACTION FAVORISANTE DES SELS DE POTASSIUM SUR LE DÉVELOPPEMENT DES TUMEURS

Au cours de ces expériences, nous avons pu nous rendre compte que le chlorure de potassium avait une influence favorisante sur le développement des tumeurs. Nous avons vu qu'il en était de même pour d'autres sels de potassium, tels que l'iode, le phosphate, l'azotate, le carbonate et le sulfate.

Le potassium aurait donc la propriété d'activer la croissance des tumeurs.

Le tableau ci-joint montre que les divers lots de souris alimentées, à partir de la date d'inoculation, avec différents sels de potassium ont des tumeurs plus grosses que celles des souris témoins.

Influence des sels de potassium sur le développement de tumeurs.

Souris inoculées le 2 octobre 1909, avec la tumeur B et alimentées avec les solutions de sels de potassium de 5/1,000 à partir de cette date.

Résultats au bout de 15 jours.



Cette constatation serait en accord avec les résultats de Beebe. Des analyses chimiques lui ont montré que la proportion de potassium était plus grande dans les tumeurs en activité de croissance que dans les tumeurs en dégénérescence. Le potassium serait donc le corps qui leur serait le plus utile pour se développer rapidement.

Cette notion de l'influence favorisante du potassium sur le développement des tumeurs pourrait, semble-t-il, entraîner une tentative d'application pratique chez les cancéreux. En supprimant le plus possible dans leur alimentation tous les sels de potassium, et en leur faisant ingérer de grandes quantités d'eaux chlorurées sodiques, puisque le chlorure de sodium a une action empêchante (nous ne pouvons pas penser au chlorure de baryum à cause de sa toxicité), on arriverait peut-être à ralentir la rapidité de croissance de la tumeur. Ce serait un essai à tenter.

Ce fait doit attirer aussi l'attention sur la prudence avec laquelle il faut employer l'iodure de potassium et le chlorate de potassium dans le traitement des lésions buccales, pour lesquelles le diagnostic différentiel entre la syphilis et le cancer n'a pu être fait.

#### ANALYSE CHIMIQUE DES TUMEURS

Les résultats de Beebe nous ont amené à nous demander si les sels qui, dans nos expériences, entraînent dans l'alimentation des souris et avaient une influence sur le développement des tumeurs étaient fixés par elles. Est-ce que les tumeurs qui, sous l'influence des sels de potassium, se sont développées plus rapidement que celles des souris témoins, contiennent dans leurs tissus une proportion de potassium plus grande que ces dernières? Est-ce que les tumeurs qui, sous l'influence des sels de baryum et de sodium, se sont développées moins rapidement que celles des souris témoins, contiennent dans leurs tissus plus de baryum et de sodium que ces dernières?

M. Piettre a bien voulu se charger de faire l'analyse chimique de tumeurs de souris qui, pendant quarante jours, à partir de la date de l'inoculation, ont été alimentées avec différents sels. Il y avait un lot de souris alimentées avec le  $KCl$ , un lot avec le  $BaCl^2$ , 1 lot avec le  $NaCl$  et 1 lot de souris témoins.

Nous le prions de recevoir ici nos vifs remerciements d'avoir effectué pour nous ce travail délicat.

Voici le protocole de ses analyses :

TÉMOINS.

Matière sèche à 110° : 2,857.

Matière humide : 15,055.

Eau : 12,198. Eau pour 100 : 81,04.

Matière sèche : 2,857.

Cendres faites par calcination à basse température des 2,857 de matière sèche.

Dosage du Cl : on lessive les cendres avec de l'eau distillée et on fait un volume de 125 c. c.

Pour 75 c. c. de cette liqueur on recueille et pèse : 0 gr., 0196 de AgCl, ce qui fait 0,00799 de NaCl, et pour les 125 c. c. : 0,0133.

Donc, 100 gr. de matière sèche, contiennent 0,465 de NaCl, et 100 gr. de matière humide, contiennent 0,088 de NaCl.

INGESTION DE BaCl<sup>2</sup>.

Matière humide : 7,880.

Eau : 6,400. Eau pour 100 : 81,23.

Matière sèche : 1,480.

Cendres faites sur les 1 gr., 480 de matière sèche. On reprend par l'acide nitrique : aucun résidu. On fait un volume de 125 c. c.

Recherche du baryum sur 75 c. c., néant.

INGESTION DE NaCl.

Matière humide : 5,480.

Eau : 1,035. Eau pour 100 : 81,11.

Matière sèche : 1,035.

Cendres faites sur la matière sèche : 1,035 à basse température.

Dosage du chlore. On lessive les cendres avec de l'eau distillée et on fait un volume de 125 c.c.

Pour 75 c. c. de cette liqueur on recueille et pèse 0,0075 de AgCl, ce qui fait 0,0036 de NaCl et pour les 125 c. c., 0,0051.

Donc, 100 gr. de matière sèche contiennent 0,492 de NaCl, et 100 gr. de matière humide contiennent 0,093 de NaCl.

Dosage du potassium : 40 c. c. de la liqueur sont utilisés pour le dosage du potassium. On recueille et pèse le chloroplatinate de potassium. PtCl<sup>4</sup> 2HCl : 0,0157.

Les 125 c. c. de liqueur, contiennent 0,0081 de potassium, ce qui fait 0,002527 de potassium.

Donc pour 100 gr. de matière sèche : 0,782 de potassium.

Et pour 100 gr. de matière humide : 0,147 de potassium.

INGESTION DE KC

Matière humide : 25,7.

Eau : 21,220. Eau pour 100 : 82,56.

Matière sèche : 4,480.

Cendres à basse température. On fait un volume de 125 c. c.

Dosage du chlore sur 75 c. c. de cette liqueur, on recueille et pèse 0,0401 de AgCl, ce qui fait 0,01636 de NaCl.

Donc, pour 100 gr. de matière sèche : 0,607 de NaCl, pour 100 gr. de matière humide : 0,105 de NaCl.

Dosage du potassium. On recueille et pèse PtCl<sup>4</sup> 2HCl, dans ses 50 c. c. de liqueur.

PtCl<sup>4</sup> 2HCl : 0,083.

Ce qui fait : 0,01336 en potassium.

Donc, pour 100 gr. de matière sèche : 0,745 de K, pour 100 gr. de matière humide : 0,129 de K.

Il résulte de ces analyses :

1° Que la teneur en eau des tumeurs est invariable et la moyenne de cette teneur en eau est égale à 81,48 0/0;

2° La teneur en NaCl est la même, aux erreurs d'expériences près. Dans l'expérience avec KCl, légère augmentation du NaCl (0,607) qui tient sans doute à une plus grande quantité de sang dans les tumeurs;

3° La teneur en potassium est sensiblement la même : 0,782 et 0,745;

4° La présence du baryum n'a pas été constatée dans les tumeurs des souris qui avaient ingéré du chlorure de baryum.

Ces sels n'agissent donc pas sur le développement des tumeurs en se fixant dans leurs tissus.

Ces résultats au point de vue du potassium paraissent en désaccord avec ceux de Beebe. Peut-être cela tient-il à ce que nos analyses ont été faites sur des poids de tumeurs très réduits. Il est possible qu'on arrive à des conclusions différentes en opérant sur des masses cancéreuses plus considérables.

On peut, en tout cas, tirer de ces recherches les conclusions suivantes :

1° La tumeur B, qui est inoculée à des souris normales avec des succès de 90 à 100 0/0, ne passe plus qu'avec un pourcentage inférieur à 50 0/0 sur des souris soumises pendant 3 ou 4 mois au moins à un régime alimentaire salin différent;

2° La tumeur B peut s'adapter peu à peu à un régime salin déterminé. Diminuée dans les premiers passages, la proportion des succès augmente à mesure que la tumeur est transplantée sur des souris alimentées avec un même sel, mais, à part quelques exceptions, elle n'est pas aussi élevée que celle obtenue par l'inoculation de la tumeur B originelle sur des souris normales;

3° Certains sels, comme le chlorure de sodium et le chlorure de baryum, ont une influence défavorable sur le développement des tumeurs;

4° Les sels de potassium ont une influence favorable sur le développement des tumeurs.



# STADES ENDOGLOBULAIRES DES TRYPANOSOMES

(avec la planche I)

PAR A. CARINI

Travail de l'Institut Pasteur de Saint-Paul (Brésil) et du laboratoire de M. Mesnil  
à l'Institut Pasteur de Paris.

Les trypanosomes étaient considérés, il y a peu de temps encore, comme les vrais types des parasites du plasma. En effet, ils avaient été toujours trouvés libres dans les humeurs de l'organisme et spécialement dans le plasma sanguin.

Mais à la suite de ses belles recherches sur les parasites du sang de l'*Athene noctua*, SCHAUDINN (1) a affirmé que les trypanosomes peuvent passer par des états de développement endoglobulaire. Les idées de SCHAUDINN, qui révolutionnaient nos connaissances sur les trypanosomes, n'ont pas été acceptées par la plus grande partie des observateurs, d'autant plus que les faits sur lesquels SCHAUDINN basait ses opinions n'ont pas encore été confirmés.

Depuis lors, on a discuté beaucoup sur les relations qui existent entre les parasites intracellulaires et les trypanosomes, et malgré les progrès de nos connaissances sur le développement des piroplasmes et des *Leishmania*, la question est encore vivement débattue et nombre de morphologistes continuent à croire qu'il y a une grande distance entre les Flagellés et les Hémocytozoaires.

Nous croyons que les faits que nous avons observés sont de grande valeur pour résoudre une question si importante; ils représentent une nouvelle preuve en faveur des opinions soutenues par SCHAUDINN, c'est-à-dire qu'il existe une relation génétique entre les flagellés et les hématozoaires intracellulaires.

Au cours d'une longue série d'observations sur les parasites du sang de la grenouille commune du Brésil, *Leptodactylus ocellatus*, nous avons souvent retrouvé, à l'intérieur des globules rouges, des corpuscules, dont l'interprétation nous a été d'abord assez difficile, mais que, à présent, nous considérons comme des trypanosomes endoglobulaires. La richesse du matériel récolté nous permet de démontrer, de manière à ne laisser aucun doute, que plusieurs trypanosomes du *Leptodactylus ocellatus*,

(1) SCHAUDINN, Generations-und Wirtswechsel bei *Trypanosoma* und *Spirochæte*, Arb. a. d. Kais. Gesundheitsamte, t. XX, 1904.

*ocellatus*, présentent une phase de leur existence à l'intérieur des globules rouges.

Nos observations portent sur des trypanosomes appartenant sûrement à diverses espèces, mais le développement endoglobulaire se fait à peu près de la même manière pour toutes les espèces; il n'y a que de petites différences dans les dernières phases. Nous ferons d'abord une description générale.

Le premier stade que l'on observe est représenté par un petit corpuscule réfringent rond, de 2-3  $\mu$  de diamètre, situé à l'intérieur des hématies. Les hématies ainsi parasitées sont parfois très nombreuses.

Dans les préparations colorées par le Giemsa, le Leishman, et par l'hématéine, ce corpuscule présente nettement les réactions colorantes de la chromatine.

Au commencement, l'hématie-hôte ne présente pas d'altérations; le parasite semble alors n'être constitué que par son noyau, plongé dans le protoplasme hémoglobinique de l'hématie.

A un état un peu plus avancé, on voit que, autour du corpuscule de chromatine, s'est formé comme une sorte de voile très fin, qui s'étend peu à peu à la surface de l'hématie, jusqu'à l'envelopper entièrement. Ce voile prend des rapports de plus en plus intimes avec le protoplasme de l'hématie et semble se confondre avec lui. La substance qui forme ce voile, d'abord très mince, se colore en gris-bleuté; mais, à mesure qu'il s'épaissit, sa coloration devient de plus en plus bleue. Sa croissance semble se faire aux dépens du protoplasme de l'hématie, qui finit par disparaître. Tandis que, tout d'abord, le voile enveloppe uniformément tout le globule, à mesure qu'il croît, il tend à se condenser d'un seul côté, de manière qu'il y a généralement un moment où nous trouvons le noyau de l'hématie refoulé d'un côté, et de l'autre côté, un protoplasme coloré en bleu, dans lequel on reconnaît la masse de chromatine, qui est devenue un peu plus grande.

On pourrait se demander d'où proviennent ces noyaux, que nous envisageons comme les premiers états du développement endoglobulaire des trypanosomes? Nos observations ne nous fournissent aucune donnée positive pour répondre à cette question, mais une hypothèse nous paraît probable. On pourrait admettre que les trypanosomes sont inoculés à nos grenouilles par des hôtes intermédiaires, sous forme des sporozoïtes, et que

ceux-ci, pénétrés dans les hématies, deviennent nos parasites endoglobulaires. L'étude du développement des trypanosomes chez les hôtes intermédiaires, pourra donc résoudre la question.

Chez nos *Leptodactylus*, l'hôte intermédiaire probable est une petite sangsue, qui était très fréquente dans le petit marécage où nous avons pêché la plus grande partie de nos grenouilles.

Lorsque le parasite endoglobulaire est arrivé à la phase de développement que nous avons décrite, l'hématie est déjà si altérée que, si l'on n'avait pas pu suivre toutes les transformations, il serait impossible d'en reconnaître la véritable nature (1). Son noyau apparaît hypertrophié et dans le protoplasme il n'y a plus trace d'hémoglobine. Dans quelque cas, il semble que les hématoblastes peuvent aussi être parasités.

Plus tard, on reconnaît facilement que l'amas de chromatine n'est autre chose que le noyau d'un parasite intracellulaire, dont le corps protoplasmique s'est individualisé autour de lui aux dépens de la masse bleue qui l'entourait.

Cette dernière phase du développement varie un peu suivant l'espèce du trypanosome; elle doit se faire en tous cas rapidement; ainsi, nous n'avons jamais pu saisir à quel moment exact apparaît dans le protoplasme un petit grain chromatique (blépharoplaste) et s'il provient directement du noyau.

Ce qui nous a persuadé qu'il fallait sérier ainsi les états endoglobulaires observés et non en sens contraire, en admettant, par exemple, qu'un trypanosome adulte vient envelopper une hématie, et peu à peu se confondre avec elle, a été spécialement l'observation suivante : Le 21-II-08, nous avons examiné le sang d'un *Leptodactylus* qui contenait de nombreuses hématies peu altérées et renfermant les petites masses de chromatine à côté du noyau. Le jour suivant, les hématies infectées sont encore très

(1) Dans les cas que nous avons étudiés, on trouve souvent des hématies, qui, bien que non parasitées, présentent un protoplasme sans hémoglobine, qui se colore en gris bleuté et même en bleu. Ce sont là des hématies très jeunes ou des hématoblastes.

Il faut observer que beaucoup de nos grenouilles étaient manifestement malades et dans un état anémique très avancé; leur sang était pâle, lavé et souvent, pour obtenir les quelques gouttes nécessaires pour faire plusieurs lames, il fallait sacrifier la grenouille, puisqu'il ne suffisait plus de couper la veine ranine située à la racine de la langue, au pavé de la bouche. L'état de forte anémie dans laquelle se trouvaient nos grenouilles, due à la destruction d'un grand nombre d'hématies, explique la présence de beaucoup de globules rouges jeunes et très pauvres en hémoglobine: leur polychromatophilie, elle aussi, explique leur extrême labilité. Dans beaucoup de nos préparations, quoique faites avec du sang retiré de l'animal vivant et aussitôt fixé, les globules rouges étaient altérés et comme en voie d'hémolyse.

nombreuses, elles sont déjà plus altérées et les parasites endoglobulaires se sont développés bien davantage. L'examen du sang, répété le 23, a montré, à côté des nombreuses hématies parasitées, un nombre considérable de grands trypanosomes libres dans le plasma.

Nous venons de tracer rapidement les phases du développement endoglobulaire que nous avons observées; nous passerons maintenant en revue les diverses espèces de trypanosomes chez lesquelles nous avons constaté ce développement.

I. *Formes endoglobulaires globuleuses* du Tryp. sp? — Nous avons trouvé plusieurs fois dans le sang de la grande circulation ces trypanosomes endoglobulaires. Mais ils étaient particulièrement nombreux dans un cas, et c'est là que nous avons rencontré les parasites dessinés dans notre planche de la figure 1 à la figure 9.

Ce sont des trypanosomes ronds ou légèrement ovales, de 10-15 $\mu$  de diamètre, dont le protoplasme se colore en bleu intense. Le noyau est arrondi et près de lui on trouve le blépharoplaste coloré en rouge plus intense que le noyau. Dans ces formes endoglobulaires, nous n'avons pas vu trace de membrane ondulante, ni de flagelle, ni de rhizoplaste, comme on en observe chez les *Leishmania*. Mais nous considérons ces formes comme des trypanosomes jeunes, encore incomplètement développés. Beaucoup de ces trypanosomes endoglobulaires sont en voie de multiplication par division longitudinale. Celle-ci commence par la division du blépharoplaste, suivie peu après de la division du noyau et finalement de celle du protoplasme.

Nous avons déjà dit comment, en suivant les différents états de développement des parasites endoglobulaires, il est facile de se persuader que les cellules hôtes sont dans leur majorité des globules rouges. Admettons pour un moment qu'il n'en soit pas ainsi, et admettons que les cellules hôtes soient des leucocytes. Ne serait-il pas alors plus logique de penser à un simple fait de phagocytose?

La réponse ne nous paraît pas douteuse pour plusieurs raisons : d'abord, les trypanosomes endocellulaires sont tous en très bon état, ce qui ne pourrait pas être s'ils étaient phagocytés, et par conséquent en train d'être digérés.

Ensuite la présence de formes petites et grandes à différents



degrés de développement, et finalement les nombreuses formes de multiplication nous semblent parler trop contre une telle hypothèse. A côté de ces formes, il y avait aussi dans les préparations des trypanosomes libres avec membrane ondulante.

II. *Formes endoglobulaires du Tryp. sp?* (Pl. I, fig. 10, 11, 12, 13).— Il s'agit d'un trypanosome très semblable, sinon identique au précédent. Le développement se fait comme chez le précédent, mais les formes libres sont plus nombreuses et on assiste ici à la transformation des formes rondes en formes longues effilées que les trypanosomes présentent d'ordinaire. Les formes rondes deviennent allongées à la suite des deux sillons qui se forment de chaque côté du corps, l'un en avant du blépharoplaste et l'autre en avant du noyau, exactement comme c'est indiqué dans les figures 13 et 14 de notre planche. Dans les préparations bien colorées, le trypanosome présentait une particularité qui nous semble digne d'être mentionnée et que nous n'avons jamais observée chez d'autres trypanosomes, c'est la présence d'un long et fin pseudopode, semblable à un flagelle et souvent situé à l'extrémité antérieure.

III. *Formes endoglobulaires du Trypanosoma karyozeukton(?)* (Pl. I, fig. 14, 15, 16). — Dans les premiers états de développement, on note que le noyau de l'hématie est refoulé à une extrémité et à l'autre se place le noyau du trypanosome. Entre celui-ci et le noyau de l'hématie, il y a presque constamment une vacuole.

Le trypanosome étant très grand, remplit de bonne heure toute la cellule-hôte et il en sort assez tôt, de manière qu'il est difficile de rencontrer dans les préparations de trypanosomes déjà bien développés et encore à l'intérieur des cellules.

Nous avons trouvé un cas extraordinairement riche de ces formes; presque toutes les hématies étaient parasitées et les formes libres en voie de formation étaient excessivement nombreuses, surtout dans les frottis faits avec la rate et le foie. Dans ces frottis, il y avait à peu près autant de trypanosomes que de cellules.

Dans ces préparations, on notait une extrême variété de formes : grandes formes de trypanosomes typiques (fig. 14) et petites (fig. 16); d'autres, qui nous semblent appartenir à la même espèce, mais se présentent sous un aspect tout différent

(fig. 15), soit par la disposition spéciale du corps du trypanosome, soit par sa coloration bien plus intense. Il faut noter encore des formes extrêmement pâles (fig. 16 a), chez lesquelles on ne voyait pour ainsi dire que le blépharoplaste, le noyau et le flagelle. Les formes toutes jeunes semblent constituées par un protoplasme presque sans membrane, tellement ses contours sont peu nets. Dans la figure 16 de notre planche, nous avons cherché à donner une idée de la variété de formes que l'on rencontre dans un champ microscopique.

IV. *Formes endoglobulaires d'un trypanosome semblable au Tryp. rotatorium.* — Nous citons aussi ce trypanosome parmi ceux qui présentent des formes endoglobulaires. Mais dans son développement, nous n'avons rien noté qui soit digne d'être signalé (1).

V. *Formes endoglobulaires du Trypanosome leptodactyli* (fig. 17 à 28). — De ce trypanosome, nous avons rencontré surtout les premières phases, qui correspondent à celles déjà décrites.

Dans quelques préparations, il nous a paru que le trypanosome sort du globule rouge sans flagelle, et sous une forme qui pourrait très facilement être confondue avec un *Drepanidium* (fig. 24). Ce n'est qu'ensuite qu'on voit apparaître près du noyau le blépharoplaste (fig. 25), qui s'éloigne de plus en plus, s'approchant de l'extrémité postérieure. Plus tard, on voit aussi le flagelle qui longe une membrane ondulante, qui est d'abord peu développée et sans plis.

Nous avons pu noter cette curieuse transformation seulement dans un cas et sur deux préparations. Elle serait une confirmation de l'observation de BILLET (2) qui prétend aussi avoir vu les *Drepanidiums* se transformer en trypanosomes. Dans le même cas, nous avons vu des trypanosomes adultes, qui semblent bien à l'intérieur des globules rouges (fig. 22, 23). Malgré la difficulté que l'on rencontre toujours dans des cas analogues lorsqu'il s'agit de dire si un parasite est à l'intérieur d'une hématie ou lui

(1) A. CARINI, *Um novo trypanosoma do Leptodactylus ocellatus*. Riv. med. de S. Paulo, 30 nov. 1907.

(2) BILLET, Sur le *Trypanosoma inopinatum* de la grenouille verte d'Algérie, et sa relation possible avec les *Drepanidium*, C. R. Soc. de Biol., Séance 23 juillet 1904.

Dernièrement FRANCA signalait un dimorphisme nucléaire dans l'évolution schizogonique de l'*Hæmogregarina splendens*. FRANCA, Quelques notes sur l'*Hæmogregarina splendens* (Labbé). Arch. do Inst. Bact. Camara Pestana, t. II, fasc. II, 1908.

est simplement accolé, nous croyons que, dans notre cas, les trypanosomes se trouvent réellement à l'intérieur, parce que, à l'examen à l'état frais, nous avons vu une fois un trypanosome semblable doué de mouvements assez vifs à l'intérieur d'un globule. On voyait nettement que le trypanosome touchait dans ses mouvements la paroi interne de la membrane globulaire.

Bien que persuadés que ces trypanosomes se trouvaient réellement à l'intérieur des hématies, nous doutons qu'ils aient fait leur développement dans l'hématie même qui les contient, parce que celle-ci apparaît très peu altérée.

VI. *Formes endoglobulaires du Trypanosoma Lewisi* (Pl. I, fig. 29, 30, 31). — Un jeune rat (*Mus decumanus*), tué à l'Institut de Saint-Paul et examiné tout de suite après, présentait dans le sang une très grande quantité de trypanosomes, morphologiquement identiques au *Trypanosoma Lewisi*. Ayant fait des frottis avec le suc des différents organes, et spécialement du foie, notre attention a été attirée par certains trypanosomes qui apparaissent enroulés sur eux-mêmes, presque toujours de la même façon. L'espace occupé alors par le parasite correspond à la grandeur d'une hématie. Dans certains cas, il nous a paru voir ces trypanosomes comme enveloppés dans une fine membrane rougeâtre : quoique très rarement, on rencontre des trypanosomes à l'intérieur d'hématies.

Nous pensons qu'il pourrait s'agir ici aussi de trypanosomes arrivés au dernier état de leur développement endoglobulaire, mais nous ne pouvons l'affirmer d'une façon sûre, puisque ici nous n'avons pas vu les états intermédiaires. D'autres recherches dans ce sens pourront peut-être éclaircir cette question.

Bien que ce soit la première fois, après les mémorables recherches de SCHAUDINN, que l'existence de formes endoglobulaires de trypanosomes soit prouvée d'une façon qui nous paraît absolument indiscutable, il est juste de rappeler que d'autres observateurs ont cru avoir observé le même fait.

NISSLE (1), en 1905, dit avoir observé une fois dans le sang d'un rat infecté de trypanosomes, un mégaloblaste dans lequel on reconnaissait clairement les contours d'un trypanosome sans flagelle, avec un noyau un peu pâle, et avec un centrosome bien

(1) A. NISSLE, *Beobachtungen am Blut mit Trypanosomengeimpfer. Tiere. Arch. f. Hyg.*, t. LIII, 1905, p. 181.

rouge. Mais le même auteur enlève toute importance à son observation, puisqu'il avoue avoir vu des corpuscules très semblables chez des animaux non infectés.

HÖHNEL (1) aussi, en étudiant le *Trypanosoma congolense*, affirme avoir vu dans un cas des trypanosomes pénétrer dans les globules rouges.

Mais il était tout naturel que l'on n'ait pas attribué de l'importance à ces observations isolées, qui pouvaient bien être le résultat d'une interprétation erronée.

Nous pouvons citer ici encore l'observation de MESNIL et BRIMONT (2), qui ont vu des parasites voisins des trypanosomes à l'intérieur des globules; ils ont créé pour eux un genre nouveau *Endotrypanum*.

Et finalement, nous rappellerons que CHAGAS a signalé des formes endoglobulaires de son *Trypanosoma Cruzi*, qu'il a récemment rencontré au Brésil, mais jusqu'à présent, il n'a pas encore publié les détails morphologiques.

Il nous semble que les figures 94, 95, 96, 98 (Planche XXIX), du travail de DUTTON, TODD et TOBEY (3) et indiquées comme parasites indéfinis, ressemblent beaucoup à celles que nous avons observées et doivent être probablement interprétées, de la même façon, comme des trypanosomes endoglobulaires.

#### CONCLUSIONS.

De nos observations, résulte donc, d'une façon qui nous paraît absolument sûre, que plusieurs trypanosomes du sang du *Leptodactylus ocellatus* peuvent passer une phase de leur vie à l'intérieur des hématies.

Dans les premiers états de leur développement endoglobulaires, ces trypanosomes ne possèdent pas trace de leur caractéristique appareil de locomotion (blepharoplaste, flagelle, membrane ondulante). A cet état-là, il serait donc impossible de les différencier des hémocytozoaires proprement dits, et cela vient à l'appui des idées de SCHAUDINN qu'il y a une parenté très étroite entre trypanosomes et hémocytozoaires.

(1) HÖHNEL, *Ueber Trypanosoma congolense. Beihefte z. Arch. f. Schiffs u. Tropenhygiene*, juin 1908. *Beihefte* 3.

(2) MESNIL et BRIMONT, Sur un hématozoaire nouveau (*Endotrypanum* n. gen.) d'un Edenté de Guyane, *C. R. Soc. Biol.*, t. LXV, p. 581.

(3) DUTTON, TODD et TOBEY, Concerning certain parasitic protozoa observed in Africa, *Ann. of trop. Med. a. Par.*, t. I, fig. 3, 1907.



# EXPLICATION DE LA PLANCHE.

Fig. 1 à 9. — Développement endoglobulaire d'un trypanosome (sp ?) à forme ronde.

Fig. 10 à 11. — Formes endoglobulaires d'un autre trypanosome, qui une fois libre se transforme en trypanosome de forme typique. (Fig. 12, 13).

Fig. 14. — Trypanosome semblable au *Trypanosoma karyozekton*.

Fig. 15. — Forme plus colorée, avec corps disposé d'une autre façon, que l'on rencontre avec les précédentes.

Fig. 16. — Aspect d'un champ microscopique dans un cas avec beaucoup de trypanosomes : a) grand Trypanosome se colorant faiblement; b) petite forme; c-d) formes à différents états de développement et paraissant encore à l'intérieur d'hématies très altérées; e-f) formes jeunes endoglobulaires.

Fig. 17 à 28. — *Tryp. leptodactyli*.

Fig. 17 à 20. — Divers stades de développement endoglobulaire.

Fig. 21. — Hématie ratatinée et comme vide.

Fig. 22 et 23. — Formes adultes, à l'intérieur des hématies, assez bien conservées.

Fig. 24 à 28. — Transformation des formes semblables à *Drepanidium* en *Tryp leptodactyli* typiques.

Fig. 29-30. — *Tryp. lewisi* (?) enroulés et paraissant à l'intérieur des hématies.

Fig. 31. — Hématie normale de rat.

# SUR QUELQUES PARASITES SEMBLABLES A DES BACILLES RENCONTRÉS DANS LES HÉMATIES DU " LEPTODACTYLUS OCELLATUS ".

(avec la planche II).

PAR A. CARINI

Travail de l'Institut Pasteur de Saint-Paul (Brésil) et du laboratoire de M. Mesnil  
à l'Inst. Pasteur de Paris.

---

A l'occasion de nombreux examens du sang, que nous avons pratiqués pendant ces dernières années chez la grenouille commune du Brésil, *Leptodactylus ocellatus*, capturée dans les environs de Saint-Paul (Brésil), nous avons trouvé assez souvent, spécialement dans les mois d'été, des parasites des globules rouges, qui, par leur forme, ressemblent beaucoup à des bacilles.

De ces parasites, les uns se rapprochent assez, comme nous le verrons, de ceux déjà rencontrés chez les grenouilles d'Europe (KRUSE, LABBÉ, GARRITCHEWSKY, LAVERAN, ZIEMANN, FINKELSTEIN, etc.,) et que M. LAVERAN a classés parmi les bactéries, sous le nom de *Bacillus Krusei*; les autres doivent être considérés comme étant probablement des protozoaires et ne nous semblent pas avoir été encore décrits.

Ceux-ci sont des éléments en bâtonnets, avec les extrémités arrondies, mesurant 1,5-3,5  $\mu$  de longueur pour 0,5-1,5  $\mu$  de largeur, situés à l'intérieur des globules rouges. Les éléments parasitaires ont un siège variable à l'intérieur des hématies; tantôt ils sont placés près du noyau, tantôt près de la périphérie. La plupart de ces corpuscules sont en bâtonnets (fig. 1,2), et ressemblent beaucoup pour la forme à des bacilles, mais il y en a de fusiformes, d'ovales (fig. 3), et même d'arrondis.

Dans les préparations colorées par le Giemsa et le Leishman, on réussit à différencier nettement un protoplasme et un noyau. Le protoplasme se colore en bleu pur, assez foncé; à son intérieur, on voit le noyau, qui prend une teinte vive de rouge-rubis. Celui-ci, arrondi ou ovalaire, est ordinairement unique et situé vers le centre du parasite, dont il occupe tout le diamètre,

Plus rarement, le noyau est situé à l'un des pôles; il peut aussi exister deux noyaux, qui sont souvent situés aux deux pôles (fig. 4). On observe encore des parasites chez lesquels la substance chromatique du noyau, au lieu d'être condensée en un ou deux blocs à contours bien nets, apparaît en voie de division ou comme diffuse dans le protoplasme (fig. 5).

Beaucoup de ces formes bacilloïdes sont isolées, mais souvent on les trouve deux par deux, situées parallèlement l'une à l'autre (fig. 6) (division longitudinale?). Un fait curieux, c'est que de ces deux formes, l'une est généralement beaucoup plus petite que l'autre.

Il est plus rare de trouver des éléments placés l'un derrière l'autre, et se touchant par une extrémité (division transversale?) (fig. 7).

Dans la même hématie, on peut trouver plusieurs de nos parasites, mais il est rare d'en voir plus de 3 ou 4. L'hématie parasitée ne présente pas d'altérations; le noyau n'est pas déplacé.

Où doit-on classer ce parasite? On serait d'abord tenté de le considérer comme un bacille, mais si l'on tient compte de la belle coloration qu'il prend par le Giemsa et le Leishman (protoplasme bleu, noyau rouge-rubis); de sa situation toujours endoglobulaire; du fait qu'il se trouve toujours isolé et non par groupes; de l'assez grande variété des formes (ronde, ovale, en bâtonnet); des dimensions, etc., il nous semble bien plus probable qu'il s'agit là d'un protozoaire.

Nous croyons aussi avoir observé d'autres faits, qui parleraient contre la nature bactérienne de ces corpuscules. Dans certaines préparations, colorées par le Giemsa et le Leishman, nous avons cru voir nos éléments bacilloïdes augmenter de volume (fig. 8) et se transformer en amas de très petits bâtonnets (fig. 9, 10, 11). Ce seraient ces petits bâtonnets, qui iraient infecter de nouvelles hématies et se transformeraient ensuite en éléments bacilloïdes identiques à ceux que nous avons décrits.

Il va sans dire que, s'il existe réellement un tel mode de multiplication (schizogonie), il serait définitivement établi que nos parasites sont des protozoaires, et nous aurions déjà des données positives pour leur classification. Malheureusement, nous ne pouvons garantir l'absolue exactitude de cette interprétation parce que, dans nos préparations, à côté des formes que nous

avons décrites, il y avait d'autres parasites (infection multiple) dont quelques-uns se présentent aussi sous la forme d'amas de bacilles.

Puisque l'hypothèse de la nature bacillaire de nos parasites, quoique peu probable, ne peut pas être éliminée d'une façon sûre, nous proposons de les désigner pour le moment sous le nom d'*éléments bacilloïdes*.

\*  
\* \*

Associées aux éléments bacilloïdes que nous venons de décrire, nous avons souvent observé des formes bacillaires groupées en amas (1).

Ceux-ci peuvent se présenter sous des aspects un peu différents, qui ne sont peut-être que des états successifs de développement.

Chez quelques-uns de nos *Leptodactylus*, nous avons observé des amas d'éléments, très semblables à des bacilles, situés presque constamment à l'intérieur des hématies. Leurs dimensions correspondent à peu près à celles des plus petits bacilles. Les amas sont composés d'un assez grand nombre d'éléments, 20-100 et plus, situés l'un à côté de l'autre, sans ordre et pas très serrés (fig. 12, 13). Ces éléments ne sont pas toujours en formes de bâtonnets; on en observe aussi d'arrondis, très semblables à des microcoques (fig. 14). Par le Giemsa et le Leishman, ils prennent une coloration bleu-rougeâtre. Une fois, nous avons trouvé ces corpuscules en nombre particulièrement considérable dans les frottis du sang du rein.

D'autres fois, les bacilles forment des amas plus compacts, arrondis, avec des bords bien nets, qui semblent comme placés à l'intérieur d'une vacuole, puisqu'on aperçoit un espace clair autour d'eux (fig. 15). Ils prennent une coloration plus bleue que les autres groupes. Le noyau de l'hématie parasitée est souvent un peu déplacé.

Ces formes se rapprochent beaucoup de celles que M. LAVE-RAN a dénommées *Bacillus Krusei*, mais ils sont spécifiquement différents, puisqu'ils sont plus minces et plus courts que les

(1) En appelant ces éléments « formes bacillaires » ou bacilles, nous ne voulons pas nous prononcer sur leur nature véritable, puisqu'il ne nous paraît pas suffisamment démontré qu'il s'agit là de bacilles.



*B. Krusei*, comme nous avons pu nous persuader en comparant nos préparations avec celles que M. LAVERAN nous a très aimablement montrées.

Nous nous sommes posé la question de savoir, s'il s'agit de bacilles, de quelle manière ils pénètrent à l'intérieur des globules, mais nous n'avons pas réussi à la résoudre.

\* \* \*

A côté de ces formes, nous avons encore observé dans les hématies, des corpuscules particuliers, qui parfois semblent aussi formés par des bacilles. Il s'agit de corpuscules que l'on voit à l'intérieur des globules rouges et, qui par le Giemsa et le Leishman, prennent toujours une coloration rougeâtre, sans que l'on puisse déceler un noyau.

De dimensions assez variables, ils peuvent même atteindre la grandeur du noyau de l'hématie (fig. 16). Ils sont irrégulièrement ovales (fig. 17); souvent, de leur masse principale, partent de fins prolongements assez longs (fig. 18, 19, 20). Ces corpuscules ne se colorent pas uniformément, mais certains endroits semblent plus colorés que d'autres, de manière que la surface paraît comme plissée; alors, on a l'impression d'avoir à faire à un amas de bacilles situés parallèlement les uns aux autres et très serrés. Souvent, le corpuscule apparaît comme fendillé en petites bandes minces et alors la ressemblance avec des amas de bacilles est encore plus grande.

Ces formes correspondent à certaines de celles qui ont été décrites chez les grenouilles d'Europe sous le nom de *Cytamæba*, mais aujourd'hui on ne saurait accepter cette interprétation, puisque les corps en question ne présentent ni noyau, ni une structure bien définie, ni les réactions colorantes des protozoaire.

LABBÉ et GABRITCHEWSKY ont interprété les fins prolongements que nous avons décrits, comme étant des bacilles parasites du protozoaire, d'où le nom de *Cytamæba bacterifera* qu'ils lui ont donné.

DUTTON, TODD et TOBEY (1) ont vu les mêmes parasites dans le sang de certains batraciens de l'Afrique, et ils donnent des figures qui correspondent à celles que nous avons observées (2).

(1) DUTTON, TODD et TOBEY, Concerning certain parasitic protozoa observed in Africa, *Ann. of trop. med. u. Paras.*, t. I, fig. 3.

(2) *Loc. cit.*, pl. XXIX, fig. 100 à 115.

Comme nous l'avons dit au commencement, chez nos grenouilles, existaient, en même temps que les parasites décrits, plusieurs autres, ainsi que hémogrégarines, trypanosomes et filaires. Parfois, les grenouilles paraissaient très malades, et alors on trouvait facilement des hématies altérées, tachetées (fig. 21).

#### Conclusions :

Parmi les hémoparasites du *Leptodactylus ocellatus*, se rencontrent :

1° Des éléments bacilloïdes, qui sont probablement de nature protozoaire;

2° Des amas de petits bacilles assez analogues au *Bacillus Krusei*, mais plus minces et plus courts et, pour cette raison, spécifiquement distincts;

3° Des corps spéciaux, décrits par quelques auteurs comme *Cytamæba*, qui ne présentent ni le noyau, ni les réactions colorantes des protozoaires, et qui peuvent dans certaines circonstances ressembler à des amas de bacilles.

## LÉGENDE DE LA PLANCHE II

### GLOBULES ROUGES DE *LEPTODACTYLUS OCELLATUS*

- 1-2-3. Corps bacilloïdes, en bâtonnets. ovales, arrondis.
4. Corps bacilloïde avec deux noyaux situés aux pôles.
5. Corps bacilloïde avec chromatine en voie de division.
6. Deux corps situés parallèlement (division longitudinale?).
7. Deux corps situés l'un après l'autre (division transversale?).
8. Corps bacilloïde augmenté de volume.
- 9-10-11. Corps bacilloïdes se transformant en amas de petits bâtonnets.
- 12-13-14-15. Amas de bacilles semblables aux *Bacillus Krusei*.
- 16-17. Formes ovales appelées *Cytamæba*.
- 18-19-20. Mêmes corps présentant des prolongements.
21. Même forme : aspect d'un amas des bacilles.
22. Globules rouges tachetés.

# SUR UNE MOISSISSURE QUI CAUSE UNE MALADIE SPONTANÉE DU " LEPTODACTYLUS PENTADACTYLUS "

(avec la planche III).

PAR A. CARINI.

(Travail de l'Institut Pasteur de Saint-Paul (Brésil) et du laboratoire de M. Mesnil, à l'Institut Pasteur de Paris.)

L'année dernière, nous avons, à l'Institut Pasteur de Saint-Paul, dans un petit aquarium, de nombreux *Leptodactylus pentadactylus* dont nous avons étudié les parasites du sang.

L'un d'eux étant mort, nous avons pratiqué son autopsie et nous avons remarqué que, dans les poumons et les reins, il y avait de petits nodules, de couleur blanc-jaunâtre, de la grosseur d'une tête d'épingle environ. Ces nodules étaient assez résistants, ne se laissaient écraser qu'avec une certaine difficulté. Plus tard, d'autres *Leptodactylus* sont morts et nous avons souvent retrouvé

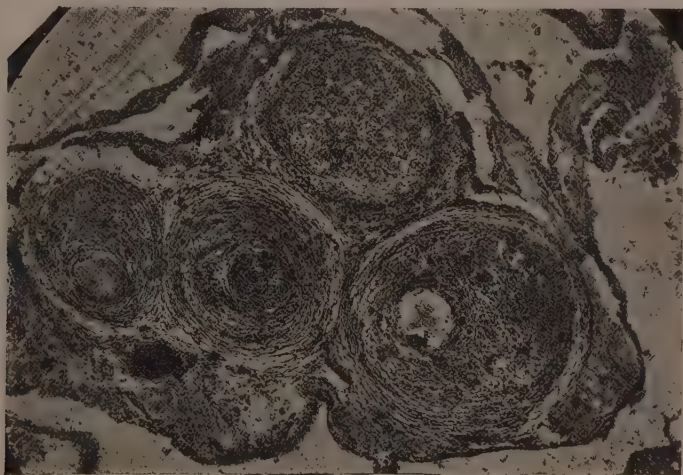


Fig. 1. — Coupe du pounion avec quatre tubercules.

les mêmes lésions plus ou moins étendues. Les tubercules s'observent de préférence aux poumons et à la surface des reins, (fig. 1 et 2), mais ils peuvent se présenter aussi au péritoine, à la

rate, au foie. Ayant examiné entre lame et lamelle quelques-uns de ces nodules, après dilacération et après les avoir traités par la solution de potasse, nous y avons noté la présence constante d'une moisissure.

Celle-ci se présente dans les tissus sous la forme de filaments et de spores. Les premiers sont de couleur jaunâtre, cloisonnés, d'un diamètre moyen de  $4\mu$ . Ils portent souvent à leurs extrémités des spores. Celles-ci sont nombreuses, quelquefois isolées, mais le plus souvent, paraissant groupées par 2 ou 4, étant en réalité multiloculaires, à 2 et à 4 loges. (Pl. III, fig. 2.)

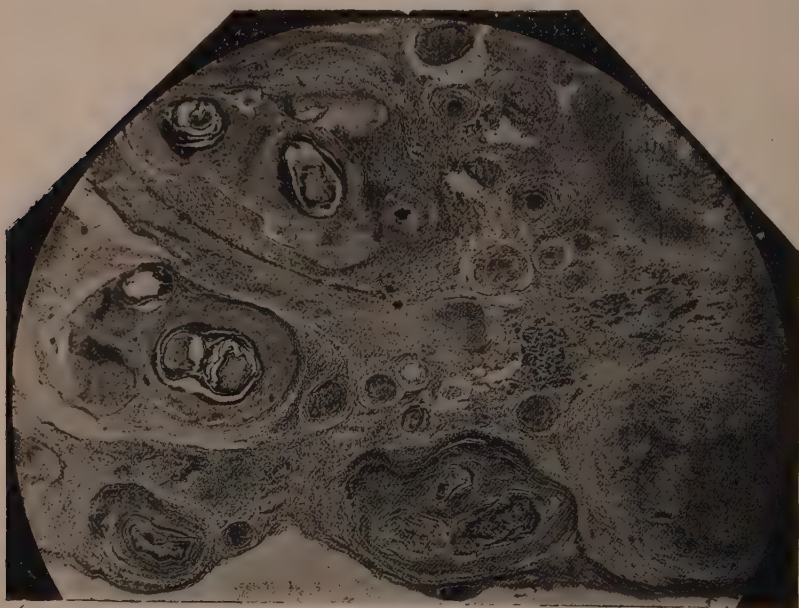


Fig. 2. — Anse d'un rein avec très nombreux tubercules.

A un fort grossissement, on voit à la surface de certains filaments et des spores des aspérités.

La forme des spores correspond à celle que l'on observe chez les *Macrosporium* où nous pouvons ranger provisoirement notre champignon (1).

(1) En comparant notre champignon avec une culture de *Macrosporium commune*, qui nous a été aimablement donnée par M. PINOY, nous avons noté une très grande ressemblance; mais une classification exacte ne sera guère possible que lorsque nous aurons réussi à obtenir des cultures.



Nous avons cherché à faire des cultures sur les milieux de SABOURAUD et de LUTZ-SPLENDORE (ergot de seigle) en y ensemençant de petits morceaux de tissus pathologiques. Bien que nous ayons répété plusieurs fois ces essais, nous ne réussîmes pas à cultiver notre champignon. On voyait bien parfois qu'il y avait eu un commencement de culture, mais celle-ci s'arrêtait vite, étouffée par d'autres moisissures, qui se trouvaient toujours dans les tubes.

Les lésions causées par cette moisissure sont nettement tuberculoïdes.

L'aspect de la lésion varie un peu selon l'âge. Lorsque les tubercules sont bien développés, ils présentent la structure suivante: Le centre est formé d'un magma homogène, amorphe, acidophile, et dans lequel on voit souvent encore des restes de noyaux de leucocytes. Ces noyaux sont légèrement teints par le pigment du champignon. Autour du centre, il y a une zone de sclérose formée par plusieurs couches de cellules aplaties. Celles qui sont les plus rapprochées du centre apparaissent souvent en voie de nécrose.

Dans le centre de beaucoup de tubercules anciens, on note de la calcification. A l'extérieur de cette zone, il y a des cellules épithélioïdes, et on observe souvent une couronne très nette de cellules éosinophiles, disposées sur plusieurs rangées (1). (Pl. III, fig. 3.)

Quand la lésion est plus jeune, elle a l'aspect d'un follicule, et la zone de nécrose manque.

Des cellules géantes se trouvent assez fréquemment à la périphérie des tubercules, et nous en avons vu quelques-unes qui contenaient à l'intérieur des spores de champignon.

Parfois, la lésion reconnaît comme point de départ un vaisseau sanguin; il y a donc une véritable granulie. Dans ce cas, la paroi vasculaire est épaissie, nécrosée et se trouve au centre d'un nodule épithélioïde.

Dans un cas, où les tubercules du rein étaient très nombreux et très rapprochés les uns des autres, existaient dans les tissus, qui les séparaient, des amas de grosses cellules granuleuses (mastzellen?).

(1) Cette éosinophilie locale a été notée dans des granulomes produits par d'autres champignons, par ex. dans ceux produits par le *Sporotrichum Beurmanni*.

Il est à noter encore que, même dans les cas où les organes étaient criblés des granulations, les lésions parenchymateuses étaient presque nulles. Ainsi par exemple, aux reins, même lorsque les tubercules étaient nombreux, on ne remarque pas ou presque pas de lésions glandulaires.

Il n'y a ni infiltration, ni tendance à la formation d'abcès.

C'est ordinairement dans le centre du tubercule, et précisé-ment dans la zone nécrosée, amorphe, que l'on trouve le plus de spores: tandis que les hyphes sont situés plutôt vers la périphérie du tubercule. La présence de si nombreuses spores dans les tissus vivants, qui s'observe dans notre cas, est une preuve de plus de l'exactitude de l'opinion soutenue par CH. NICOLLE et PINOY (1) (2), puis par BRUMPT (3), que les champignons pathogènes peuvent fructifier à l'intérieur des tissus. En considérant toutes ces lésions, on peut en conclure que le parasite n'est pas doué d'une grande virulence ni d'une grande toxicité; il lèse les tissus et les détruit lentement en aboutissant à la nécrose. Ce cas nous paraît particulièrement intéressant, puisqu'il nous permet de constater, chez un batracien, des lésions identiques à celles que produisent les champignons pathogènes chez l'homme; de plus nous notons l'éosinophilie locale, comme dans les sporotrichoses, et enfin, nous voyons que les moisissures pathogènes peuvent très bien donner lieu à des formes de fructification à l'intérieur des tissus.

*Note.* — Nous avons observé des tubercules causés par des moisissures aussi chez un *Boa constrictor*, qui était mort en captivité dans une ménagerie. Les petits nodules de couleur blanchâtre, de la grosseur d'un grain de mil, étaient dans l'épaisseur des parois des poumons.

Observés à l'état frais après dilacération, on y décelait des filaments de moisissures. Ceux-ci ont été retrouvés dans les coupes d'un nodule après coloration par le Gram, mais malheureusement nous ne pouvons pas donner d'autres détails, parce qu'à la suite de circonstances indépendantes de notre volonté, nous avons perdu le matériel pathologique qui était destiné à l'étude histologique.

## EXPLICATION DE LA PLANCHE III

Fig. 1. — Coupe d'un tubercule du poumon contenant de très nombreuses spores et des filaments de moisissures.

Fig. 2. — Filaments et spores du champignon.

Fig. 3. — Coupe d'un tubercule du rein; dans la zone nécrosée du centre, on voit des filaments et des spores; à la périphérie, nombreuses cellules éosinophiles.

(1) CH. NICOLLE et PINOY, Sur un cas de mycétome d'origine aspergillaire observé en Tunisie, *Arch. de Parasitologie*, t. X, 1906, p. 437-458.

(2) CH. NICOLLE et PINOY, Sur la fructification des champignons pathogènes à l'intérieur même des tissus de l'homme, *C. R. Ac. des Sciences*. Séance 18 fév. 1907.

(3) BRUMPT, Les mycétomes, *Th. Fac. médecine et Arch. de Parasitologie*, t. X, 1906.

